

**Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie
Studijní obor: EKOEVOBI



Adam Glier

Srovnání vybraných vlastností příbuzných rostlin z prostředí disturbance nebo stresu na
industriálních deponiích v krajině a z jejich okolí

Comparison of selected traits at conspecific plants in disturbed and stressed
environments localized within industrial waste deposits and their surroundings in landscape

Typ závěrečné práce:
Bakalářská práce

Vedoucí práce:
Prof. RNDr. Pavel Kovář, CSc.

Konzultant:
Mgr. Tomáš Urfus, Ph.D.

Praha 2019

Charles University
Faculty of Science

Poděkování

V první řadě děkuji prof. RNDr. Pavlu Kovářovi, CSc., mému školiteli, který mi byl vždy nápomocný a věnoval mi spoustu svého času. Také jsem moc vděčný za pomoc, nejenom v oblasti genomiky, Mgr. Tomáši Urfusovi, Ph.D., který mi byl ochotný vždy pomoci. Jemu a celému týmu cytometrické laboratoře bych chtěl poděkovat za zaučení v laboratoři a příjemnou atmosféru, která tam panovala. Nemalé díky patří také všem lidem, kteří se podíleli na sběru dat z odkaliště ve Chvaleticích. Dále bych chtěl poděkovat Mgr. Martinu Weiserovi, Ph.D. za pomoc při vyhodnocování dat. Mé díky také patří mému příteli a kolegovi Janu Baštovi, který mi ukázal, jak efektivně hledat články potřebné k této práci. Moc děkuji mé mamince a tetě za pomoc s opravou gramatických chyb. Poslední, ale veliké díky patří mé manželce Pavlíně Glierové, která mě po celou dobu práce podporovala a vytvářela doma pohodové pracovní prostředí.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně, a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 09.01.2020

Podpis:

Abstrakt

Práce se věnuje rozdílům ve vybraných vlastnostech konspecifických rostlinných kolonizátorů, jež spontánně osidlují prostory uvnitř nerekulitovaných průmyslových areálů, resp. deponií, a rostlin s výskytem v přilehlém okolí. Studie navazuje na předchozí výzkumy, které v případě opuštěných odkališť zjistily rozdíly ve vlastnostech rostlin, jako jsou např. adaptivní strategie, rychlost růstu, fenologie, velikost rostlin, způsoby šíření v prostoru, ekofyziologické nebo genetické parametry (Bryndová et Kovář 2004, Mrázek 2004, Zákravský et al. 2004, Jarolímová 2004, Kovář et al. 2004, Jiráčková et Dostál 2004, Kovář et Herben 2004, Dostál et Kovář 2013, Štefánek 2015, Urbanová et al. 2017). Součástí práce je posouzení funkčního významu malých a velkých genomů na obou typech stanovišť ve stanoveném fylogenetickém rámci, jinak řečeno - zodpovězení otázky: Mají rostliny kolonizující disturbovaná/stresovaná místa "uvnitř" deponií menší genomy než příbuzné taxony rostoucí "vně" deponií?

Klíčová slova

nerekulitované průmyslové deponie v krajině, opuštěná rudní odkaliště, velikost genomu, průtoková cytometrie, konspecifické taxony, vlastnosti rostlin, kolonizace, sukcese, ekologie obnovy, disturbance (narušení), stres (zátěž), ekologická genomika

Abstract

This study is oriented on the assessment of selected traits at conspecific plant which spontaneously colonize interior space within abandoned industrial area and/or deposits, and those ones occurred in adjacent vicinity. The work continues in previous studies concentrated on abandoned mine tailing containments where some important outputs consist of differences in plant adaptive strategies, growth rate, phenology, body size, ways of dispersal, ecophysiological or genetic parameters (Bryndová et Kovář 2004, Mrázek 2004, Zákravský et al. 2004, Jarolímová 2004, Kovář et al. 2004, Jiráčková et Dostál 2004, Kovář et Herben 2004, Dostál et Kovář 2013, Štefánek 2015, Urbanová et al. 2017). A part of the study includes the significance of small and large genomes at both types of habitats within defined phylogenetic framework. In other words - testing of the hypothesis: There is functional significance of small versus large genomes of plant species by comparing their occurrence in unreclaimed toxic deposits (landscape islands) with their populations from neighbouring habitats (large scale level).

Key words

unreclaimed industrial deposits in landscape, abandoned mine tailings, genome size, flow cytometry, conspecific taxons, plant traits, colonization, succession, disturbance, stress, restoration ecology, ecological genomics

Obsah

Úvod	1
Cíle	1
Sukcese.....	2
Primární a sekundární sukcese	2
C-R-S strategie rostlin.....	2
Teorie ostrovní geografie/kolonizace	3
Velikost genomu a ekologie rostlin	4
Ekologická nika	4
Velikost genomu rostlin a průtoková cytometrie	5
Velikost jaderného genomu	5
Velikost genomu v rámci rodu či druhu	6
Polyploidie	6
Průtoková cytometrie	7
Velikost genomu a její souvislosti s funkčními vlastnostmi rostlin.....	8
Velikost buňky, velikost jádra a objem DNA.....	9
Objem jaderné DNA a minimální generační doba	9
Objem jaderné DNA a schopností invaze rostlinných druhů.....	10
Postindustriální deponie.....	11
Postindustriální deponie v ČR.....	11
Strusko-popílkové odkaliště	12
Rudní odkaliště	12
Technologie vršení	12
Chvaletické odkaliště	12
Sukcese rostlinných společenstev na deponiích.....	13
Způsob nakládání s těžkými kovy.....	13
Potenciální aplikace studia genomů v ekologii obnovy	14
Ekologie obnovy.....	14
Ekotoxikologie	16
Diskuse	16
Shrnutí	17
Experimentální část.....	18
Metodika	18
Výsledky	18

Závěr experimentální části	21
Reference	22

Úvod

Krajina po celém světě, a hlavně v Evropě, je již po staletí ovlivňována lidskou populací. Evropská krajina je velice rozrůzněná a liší se například různými klimatickými podmínkami nebo substrátovými poměry (horninové podloží, půdy), a právě tato rozrůzněnost nabízí širokou škálu krajinných typů příznivých např. pro divokou zvěř, rekreaci nebo slouží jako zdroj surovin. Tuto krajinu bychom mohli rozdělit na krajinu, kterou zformovaly čistě přírodní procesy jako je tektonická aktivita, podnebí, sedimentace, eroze, tedy krajinu přírodní a krajinu, která je do velké míry ovlivněna člověkem, tedy kulturní (Meeus 1995).

Právě takto člověkem přetvořená krajina vzniká často těžbou. Na naší planetě je 1% krajiny ovlivněno touto činností, což je 1,5 milionu km² (Prach et al. 2009). Těžba byla vždy součástí civilizace, a také součástí naší ekonomiky. Jednou z nejvíce těžených surovin je uhlí, což je surovina, která zajišťuje až 40% světové produkce elektrické energie. Uhlí je těženo převážně z povrchových dolů, které zaujímají ohromné plochy krajiny (Walker et Del Moral 2003). V České republice bylo moderní těžbou ovlivněno okolo 0,89% krajiny, tedy 700 km² (Prach et al. 2009).

Ve své bakalářské práci bych se chtěl zaměřit na dosavadní výzkumy, které se zabývají lokalitami, jež byly narušeny těžbou a rozšířit poznání o tom, jaké rostliny ve srovnání s okolím na těchto lokalitách rostou. Důraz je kladen na studie, které se zabývají vztahem genetických vlastností a ekologie daných rostlin. Také se chci podívat na to, jak vypadá dnešní ekologie obnovy (obnova krajiny) a jak se získané poznatky dají aplikovat v tomto mladém odvětví. V poslední části této práce předkládám vlastní data sebraná na chvaletickém rudním odkališti, které zůstalo nerekulтивováno, a po dobu přibližně 40 let bylo ponecháno samovolnému vývoji. Na základě této "pilotní" případové studie jsem získal zkušenosti, které bych mohl využít pro případné práce na tuto rešeršní navazující.

Cíle

Práce je primárně rešeršní povahy a v závěru přináší vlastní pilotní výsledky ze souboru dat získaných v konkrétní lokalitě. Studii považuji za možné východisko, zejména metodické, pro potenciálně navazující diplomovou práci.

V úvodní části se chci soustředit na seznámení se základními pojmy, dále se stručně věnovat pojednání o obecných ekologických principech, které by mohly hrát roli v tématu práce, jako je například sukcese, životní strategie rostlin, nebo osidlování.

Dále se zaměřím na problematiku, která se zabývá velikostí genomu, definuji pojmy a problémy s tím související a také to, jakým způsobem se dá měřit velikost genomu. Rovněž zahrnu studie, které se zabývají vlivem velikosti jaderného genomu na vlastnosti a výskyt rostlin.

Také bych se chtěl podívat na postindustriální deponie z hlediska jejich osvojování přírodou a konkrétněji na nerekulтивovaná odkaliště. Soustředím se na to, jaké podmínky na nich přetrvávají a také v jakém rozsahu a jak rychle probíhá sukcese společenstev s návazností na potenciální aplikaci studie genomu rostlin v ekologii obnovy, ekotoxikologii a remediaci.

Na konci této práce bych se chtěl dobat, jakým způsobem ovlivňuje velikost jaderného genomu u rostlin schopnost jejich trvalého výskytu na těžbou narušených místech jako jsou industriální deponie a odpovědět na otázku, zda mají rostliny kolonizující disturbovaná či stresovaná místa "uvnitř" deponií menší genomy než příbuzné taxony rostoucí "vně" deponií.

V úplném závěru této bakalářské práce bych chtěl ukázat pilotní výsledky ze sběrů a měření provedené v období 1.6. 2018 až 4.7.2019 a stručně zhodnotit, zda tyto prvotní výsledky podporují pracovní hypotézu evokovanou výše zmíněnou otázkou. Pracovní hypotéza je následující: rostliny uvnitř deponie mají menší genom než jejich příbuzné rostoucí v okolí odkaliště, resp. na jeho okraji. Vychází z předpokladu, že rostliny s menším genomem by mohly mít menší požadavky na živiny (P, N) rychlejší buněčný cyklus (není potřeba syntetizovat takové množství NK), tudíž by to měly být ruderální druhy (R-stratégové, resp. terofyty, obecně rostliny s krátkým životním cyklem, převážně jednoletky), které dobře reagují na extrémy v substrátovém obsahu živin a obecně na stres nebo disturbance dané v našem případě charakterem a dynamikou navršeného substrátu.

Sukcese

Sukcese společenstev, resp. vegetace je základní koncept používaný v ekologii. Využívá poznatky získané například v geologii, meteorologii, populační biologii, ekologii organismů a řadě dalších vědních disciplín (Grime 1979). Tento pojem můžeme chápat jako sérii změn, které ovlivňují strukturní a funkční uspořádání společenstva (Drury et Nisbet 1973).

Součástí sukcese jsou dva faktory, které dokážou velice zásadně pozměnit běh přírodních procesů, je to stres a disturbance. **Stres** (zátěž) je omezení, které omezuje produkci/tvorbu sušiny pocházející z vnějšího prostředí. Nejčastěji jsou to faktory, které limitují příjem solární energie, vody či minerálních látek ať už v celé či částečné vegetaci. Původci stresu mohou být, jak jiné organismy, tak i neživá příroda. **Disturbance** (narušení) je událost, která pravidelně, či nepravidelně ničí celé rostliny, nebo jen jejich části. Tyto události jsou zapříčiněny přírodními katastrofami (požár, povodeň, silný vítr), aktivitou herbivorů (okus), patogeny, nebo lidskou aktivitou (zvláště záměrným vypalováním) (Grime 1979).

Intensity of disturbance	Productivity	
	High	Low
Low	Competitors	Stress-tolerators
High	Ruderals	No viable strategy

Tabulka 1: Vztah mezi produktivitou prostředí a intenzitou disturbance (Grime 1979).

Primární a sekundární sukcese

Primární sukcesí můžeme rozumět takový vývoj ekosystému, který se odehrává na čerstvě obnažených nebo nově vzniklých stanovištích, a nejsou přítomny žádné pozůstatky předešlé sukcese jako například semena. Ve fázi vývoje ekosystému, kdy je jeho stádium ovlivňováno předešlými generacemi organismů, mluvíme už o sekundární sukcesí (Franklin et al. 1985).

C-R-S strategie rostlin

Různé podmínky a biologické adaptace při obsazování ekologických nik vedou k rozrůzněním strategií, nejenom u rostlin. Můžeme je rozdělit na druhy kompetičně silné, druhy stres-tolerantní a takzvané ruderální druhy, přizpůsobené narušovanému (disturbovanému) prostředí (Grime 1979).

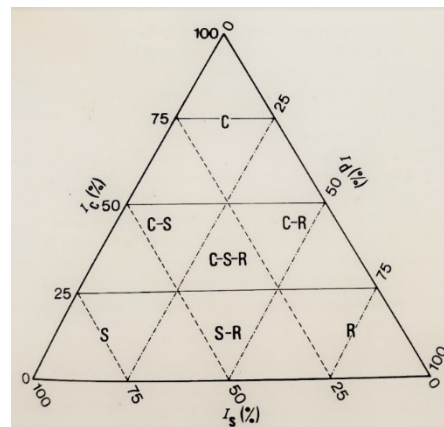
Kompetičně silné druhy - vyskytují se převážně ve formě bylin, keřů a stromů. Mají velkou hustotu listů, které jsou robustní a mezomorfní, na prýtu s mohutným kmenem či

stonkem, jejich větve se široce rozšiřují, jak do výšky, tak do šířky, vytvářejí velkou biomasu. Životnost listů a kořenů je relativně krátká, produkce květů bývá časována po období největší produktivity a každoročního kvetení, také mají malou produkci semen. Mají velkou potenciální rychlost růstu, a na stres odpovídají velkými morfologickými změnami. Jsou sezónně ovlivněné, jak schopností fotosyntetizovat, tak příjmem minerálních látek. Látky syntetizované při fotosyntéze jsou investovány do vegetativních částí rostlin, a část je uložena na příští sezónu. Reprodukční systémy mohou být různé, (například velké plody/semena, nebo klonální množení) (Grime 1979).

Stres-tolerantní druhy - často ve formách lišejníků, bylin, keřů a stromů, mají širokou škálu tvarů prýtu. Listy jsou často malé či jehlicové, mohou být neopadavé a rostliny jsou vždyzelené. Malá je i produkce semen. Mají malou rychlost růstu, morfologická odpověď na změny je často pomalá, asimiláty ukládají do listů a kořenů. Dokážou se dobře chránit před herbivory. Jde o adaptace na zátěž (stres) spočívající buď v nestandardně nízkých nebo naopak vysokých hodnotách faktorů (teploty, koncentrace prvků, obsahu vody v půdě apod.) (Grime 1979).

Ruderální druhy - převážně byliny, často malého vzrůstu a spíše rostoucí do výšky nežli do šířky, morfologie listů je různorodá a mezomorfní, životní cyklus bývá velice krátký. Kvetou velice brzy ve svém životním cyklu a také tvoří velké množství semen. Dokážou růst velice rychle. Jako odpověď na stres umí zkrátit fázi vegetativního růstu a přejít do generativní fáze vývoje. Své zásoby ukládají do semen. Adaptace formou urychleného životního cyklu s početnou reprodukcí se optimálně uplatňuje v proměnlivém (narušovaném) prostředí (Grime 1979).

Tyto tři typy strategií se také kombinují a můžeme je tak nazývat sekundárními strategiemi, jak ukazuje graf 1 v závislosti na podmínkách (Grime 1979).



Graf 1: I_c -relativní důležitost kompetice, I_s -relativní důležitost stresu, I_d -relativní důležitost disturbance (%) (Grime 1979(str.57).

Teorie ostrovní geografie/kolonizace

Roku 1967 byla Robertem MacArthurem a Edwardem Wilsonem formována teorie, která vysvětlovala následující jevy, které pozorovali. Proč je na velkých ostrovech více druhů než na malých a proč mají ostrovy, které jsou blíže k pevnině, více druhů než ostrovy vzdálené. Teorie ostrovní biogeografie předpokládá, že diverzita druhů na ostrově je určována vztahem mezi imigrací a extinkcí a rovnovážný vztah nastává tehdy, kdy imigrace a přírůstek populací na ostrově se rovná extinkci. Tento vztah by se dal popsat funkcí $S=f(+\text{stanovištní diverzity, -disturbance, +velikost plochy, +stáří ostrova, -izolace})$, kdy S je druhová diverzita na ostrově, $+$ = faktory pozitivně působící na S a $-$ = působící negativně. Tato teorie je často aplikována na terestrické ostrovy v naší krajině, například ostrovy azonálního prostředí, vodní plochy nebo stanoviště s extrémními substráty, které vznikají těžbou. Pro tato stanoviště by se funkce musela upravit na funkci $S=f(+\text{stanovištní diverzity, }-(+)\text{disturbance, +velikosti plochy, +stáří, -izolace, +heterogenity matrice, -diskrétnosti hranic})$ jelikož u terestrického „ostrova“ hranice nikdy nedosáhne maximálního kontrastu, jako je tomu u skutečných ostrovů souše ve vodním prostředí a také okolní matrice zde může vykazovat na rozdíl od vody

odstupňovanou heterogenitu (Wilson et MacArthur 1967; Kovář 2014). Jedinou nepříliš frekventovanou výjimkou jsou “inverzní ostrovy“, jinak vodní nádrže obklopené souší (tento případ mohou představovat i zde studovaná odkaliště, pokud jsou ještě v provozu, a představují jakýsi “rybník na kopci”).

Velikost genomu a ekologie rostlin

Disciplína zabývající se vztahem mezi strukturou, funkcí genomu a vazbou organismů k živou a neživou přírodu, je ekologická genomika (ecological genomics), do jejíhož rámce bychom mohli tuto práci zařadit.

Ekologická nika

Mohli bychom ji definovat jako podmínky životního prostředí, které umožňují uspokojit minimální požadavky daného druhu k tomu, aby počet narozených jedinců této populace v prostředí byl roven či větší než mortalita jedinců (Chase et Leibold 2003). Ekologická nika tedy určuje, jaké druhy se mohou v určitém prostředí dlouhodobě vyskytovat. Součástí těchto podmínek je stres a to, jak jsou s ním rostliny schopny se vypořádat.

K určení toho, jaké rostliny s jak velkým genomem bychom mohli najít na konkrétních stanovištích, potřebujeme vědět, jakým způsobem ovlivňuje velikost genomu vztah rostlin k prostředí. Například se můžeme domnívat, díky studii Kubesova et al. (2010), že je zde souvislost mezi schopností naturalizace nepůvodních druhů - naturalizované druhy mají menší genom než druhy původní. Avšak při porovnání druhů nepůvodních, které prošly naturalizací, a druhů nově zavlekaných, invazních (neofytů) se průkazný rozdíl neukázal. Tedy velikost jaderného genomu se promítá do procesu naturalizace nepůvodních druhů.

Je dobré si zde ujasnit několik termínů. **Nepůvodní rostliny** představují skupinu rostlin vyskytující se v prostředí, do kterého byly zavlečeny ať záměrně či náhodou lidskou činností. **Naturalizované druhy** jsou nepůvodní druhy, které tvoří trvalé a udržitelné populace bez lidského přičinění a nemusejí být nutně druhy invazní. **Invazní druhy** jsou naturalizované druhy, které tvoří často velké množství potomků a dokáží je šířit na velké vzdálenosti od mateřských jedinců (Richardson et al. 2000).



Obrázek 1: Invazní druh křídlatky japonské (*Reynoutria japonica*) na odkališti ve Chvaleticích.

Pokud bychom chtěli zjistit, pro jaké prostředí jsou typické rostliny s malým či velkým genomem, nedostali bychom jasnou odpověď. Několik měření a pozorování se sice pokoušelo odpověď najít, ale výsledky byly často protichůdné. Co se týče nadmořské výšky, tři ze sedmi článků na toto téma v práci Knight et Ackerly (2002) vypovídají o negativní korelaci, dva o pozitivní, jeden o nelineární a jeden vyšel jako neprůkazný. Více rozepsáno v tabulce 2. Obdobně protichůdné výsledky bychom mohli najít i u závislosti týkající se velikosti genomu a zeměpisné šířky. Avšak co se týče vztahu velikost genomu a ročních srážek, tam je závislost

už zřetelná, tedy pozitivní. Dále pak s rostoucí teplotou klesá velikost genomu a poslední z těchto ekologických gradientů je pak velikost semene, kde platí také pozitivní závislost. Tyto vztahy jsou však daleko komplexnější, než by se zdálo. Vrátime-li se k teplotě, konkrétně k maximálním a minimálním teplotám), malé genomy dominují napříč celým gradientem, avšak velké genomy se drží spíše v průměrných hodnotách. Rostliny s velkým genomem bychom obtížněji hledali v prostředí s extrémními teplotami (Knight et Ackerly 2002).

Variable	Cor.	Level	Description	Authors
Elevation	–	pop.	8 <i>Dactylis glomerata</i> in Spain	Creber <i>et al.</i> (1994)
Elevation	–	pop.	17 <i>Dactylis glomerata</i> in France and Italy	Reeves <i>et al.</i> (1998)
Elevation	–	pop.	8 <i>Zea mays</i> in New Mexico	Rayburn (1990)
Elevation	+	pop.	12 <i>Zea mays</i> South-western USA	Rayburn & Auger (1990)
Elevation	+	pop.	15 <i>Dasyphyrum villosum</i>	Caceres <i>et al.</i> (1998)
Elevation	∧	pop.	23 <i>Zea mays</i> South-western USA	Rayburn (1990)
Elevation	NS	sp.	51 neotropical <i>Lonchocarpus</i> trees	Palomino & Sousa (2000)
Latitude	+	pop.	Several <i>Picea sitchensis</i>	Miksche (1967, 1971)
Latitude	–	pop.	Several <i>Festuca arundinacea</i>	Ceccarelli <i>et al.</i> (1992)
Latitude	–	pop.	North American cultivars of <i>Zea mays</i>	Rayburn <i>et al.</i> (1985)
Latitude	NS	pop.	Several <i>Picea glauca</i>	Teoh & Rees (1976)
Latitude	NS	pop.	10 <i>Dactylis glomerata</i>	Creber <i>et al.</i> (1994)
Latitude	+	sp.	Tropical vs. temperate grasses	Avdulov (1931)
Latitude	+	sp.	329 tropical vs. 527 temperate plants	Levin & Funderburg (1979)
Latitude	+	sp.	17 Poaceae and 15 Fabaceae crops	Bennett (1976)
Latitude	–	sp.	169 British plants	Grime & Mowforth (1982)
Latitude	–	sp.	23 Arctic plants	Bennet <i>et al.</i> (1982)
Latitude	NS	sp.	19 <i>Helianthus</i>	Sims & Price (1985)
Precipitation	+	pop.	24 <i>Microseris douglasii</i>	Price <i>et al.</i> (1981)
Precipitation	+	sp.	18 North American <i>Pinus</i>	Wakamiya <i>et al.</i> (1993)
Precipitation	NS	sp.	19 <i>Helianthus</i>	Sims & Price (1985)
Temperature	–	sp.	18 North American pines	Wakamiya <i>et al.</i> (1993)
Seed size	+	pop.	15 <i>Dasyphyrum villosum</i>	Caceres <i>et al.</i> (1998)
Seed size	+	pop.	12 Soybean strains	Chung <i>et al.</i> (1998)
Seed size	+	sp.	121 British plants	Thompson (1990)
Seed Size	+	sp.	43 British plants	Grime <i>et al.</i> (1997)
Seed Size	+	sp.	22 <i>Crepis</i>	Jones & Brown (1976)
Seed Size	+	sp.	12 <i>Allium</i> and 6 <i>Vicia</i>	Bennett (1972)
Seed Size	+	sp.	18 North American pines	Wakamiya <i>et al.</i> (1993)
Seed Size	+	sp.	Several Poaceae and Fabaceae	Mowforth (1985)

Tabulka 2 : - Negativní korelace, + pozitivní k., NS neprůkazné, ∧ nelineární k. (Knight et Ackerly 2002).

Pokud se podíváme na prostředí, které je znečištěné jedovatými látkami, jako jsou například olovo, kadmium či zinek, tak zde můžeme najít negativní korelaci mezi velikostí genomu a stupněm znečištění (Vidic et al. 2009).

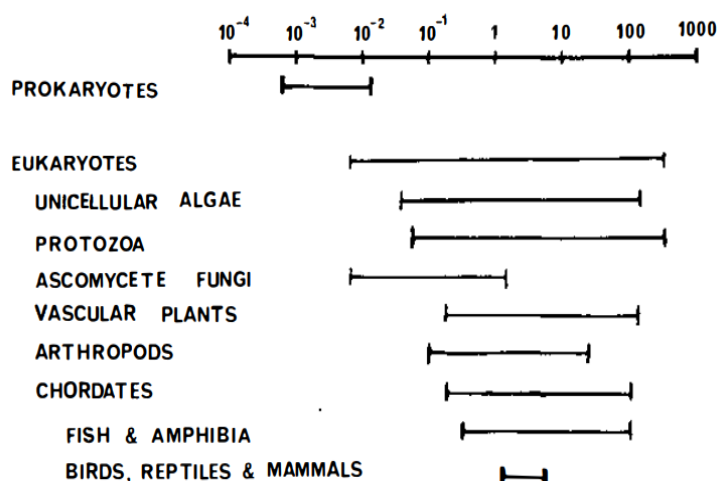
V článku Grime et Mowforth (1982) se v porovnání 162 rostlin Britských ostrovů ukázalo, že rostliny jednoděložné mají větší genom než dvouděložné.

Velikost genomu rostlin a průtoková cytometrie

Velikost jaderného genomu

V roce 1920 byl německým botanikem H. Winklerem poprvé použit pojem genom (Dolezel et al. 2007) a v roce 1953 byla popsána dvoušroubovice deoxyribonukleové kyseliny panem Watsonem a Crickem (Watson et Crick 1953). Od těchto objevů uplynulo už řada let a za tu dobu bylo v oblasti genetiky popsáno mnoho souvislostí a sebráno velké množství dat. Organismy se liší sekvencí bází ve dvoušroubovici (tedy genotypu) a také velikostí celého genetického materiálu v jádře. První z těchto dvou vlastností byla dána velká pozornost a bylo a je mnoho projektů, zabývajících se sekvenováním genomu (Dolezel et al. 2007).

Velikostí genomu můžeme myslet C-hodnotu, tedy množství holoploidní jaderné DNA v jedné buňce, přičemž holoploidní genom je genom všech chromozomových sad daného jedince. Nebo můžeme hovořit o Cx-hodnotě, kdy za x dosazujeme ploidní stupeň (Gregory 2001, Greilhuber et al. 2005). C-hodnota se polyploidizací zdvojnásobuje, zato Cx – hodnota, nikoli a zůstává velikostí x sady chromozomů (Van Straalen et Roelofs 2011). Udávat ji můžeme více způsoby, buď v pikogramech (pg) nebo v megapárech bází (MBP). Velikost genomu je



Graf 2: Velikost jaderného genomu (pg) skupin organismů (Cavalier-Smith 1982).

charakteristika, která se liší napříč všemi organismy. Obecně vzato nejmenší genom mají prokaryota, u eukaryotických organismů je rozmezí velikosti C-hodnoty dosti široké, jak můžeme vidět na obrázku 3. (Gregory 2001). V rámci *Viridiplantea* se C-hodnota může pohybovat od těch nejmenších 0,01 pg u *Ostreococcus tauri* (Derelle et al. 2006) až po ty největší, které můžeme najít například u *Paris japonica*, jejíž genom má 152,23 pg (Pellicer et al. 2010).

S touto vlastností souvisí také paradox c-hodnoty nebo také enigma c-hodnoty, což je předpoklad, že velikost c-hodnoty nesouvisí s komplexitou organismu. Například někteří primitivní obojživelníci a ryby mají až 20krát větší C-hodnotu než člověk, jak popisuje graf 2 (Thomas Jr 1971).

Velikost genomu v rámci rodu či druhu

Velikost jaderného genomu je hodnota, která se neruší jen mezi druhy, které si nejsou evolučně blízké (tedy v rámci vyšších taxonomických úrovní), ale liší se v rámci blízké příbuzných linií, tedy mezi druhy týčž rodů. Označujeme ji jako diverzitu **interspecifickou**. Jiný případ je, když se liší velikost genomu mezi jedinci stejného druhu, **intraspecifická** diverzita. Nicméně jde o poměrně vzácný jev. Proto můžeme, druhy, které mají tuto hodnotu nejstabilnější, používat jako standardy. Jedná se o rostliny, které se používají při měření C-hodnoty průtokovou cytometrií (Bennett et al. 2000). Jsou zde i výjimky, kdy se C-hodnota lišila v rámci jednoho druhu, například v Creber et al. (1994), kde se při měření sedmnácti tetraploidních druhů *Dactylis glomerata* ukázalo, že velikost C-hodnoty se pohybovala od 4,4 pg do 5,6 pg. Jiný případ je v Rayburn et al. (1985), kdy se našla rozdílnost genomů mezi *Zea mays*, byla zde vidět nejmenší hodnota 9,82 pg a největší 12,12 pg. Nicméně tato hodnota se většinou v rámci druhu neruší (Bennett et Smith 1976).

Polyploidie

Polyploidizace je buď duplikace celého genomu (celková polyploidizace) nebo jen části genomu (např. chromozomální polyploidizace). Duplikace celého genomu se může jevit nevýhodná a často vede ke smrti organismu. Toto platí převážně pro druhy z živočišné říše (zejm. Amniota). Na druhou stranu je polyploidizace u některých skupin organismů (např.

právě rostlin) poměrně častou událostí. Zatímco polyploidizace hraje zásadní roli v evoluci krytosemenných (*Angiospermae*) a kaprad'orostů (*Pteridophyta*), je poměrně vzácná u nahosemenných (*Gymnospermae*) a mechorostů (*Bryophyta*) (Van Straalen et Roelofs 2011).

Polyploidii bychom mohli rozdělit na dva typy. První z nich je autopolyploidie, kdy polyploidizace nastává v rámci jednoho druhu, ale i často v rámci jedince. Allopolyploidie je zkrřížení dvou různých druhů a následné zdvojení genomu (Soltis et Soltis 2012 sec. Coyne et Orr 2004).

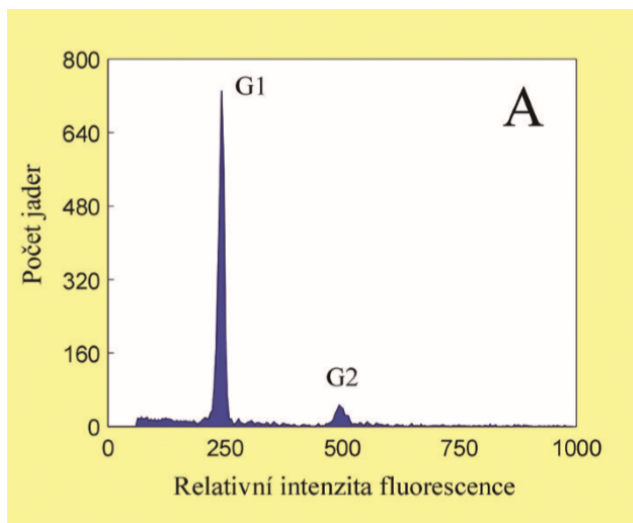
Polyploidizační události měly velký význam a zásadní vliv na evoluci rostlin. (Soltis et al. 2003; Adams et Wendel 2005; Soltis et Soltis 1995). Odhady na to, jak velká část rostlin ve své evoluci prošla polyploidizací, se liší, například Müntzing (1936) odhaduje, že polovina všech krytosemenných rostlin jsou polyploidi a Anderson et Stebbins (1950) odhaduje počet polyploidů mezi krytosemennými okolo 30-35%. Avšak novější genomické studie ukazují, že by polyploidizací, ať dávnou či ne tak dávnou, mohly projít všechny krytosemenné rostliny (Soltis et al. 2010). Může se také stát, že se paralogní chromozomy, jak jde vývoj kupředu, začnou lišit funkcí a svým uspořádáním, tomuto jevu se říká kryptopolyploidizace. V takovém případě je obtížné určit, zda jde vlastně o polyploida (Van Straalen et Roelofs 2011). V historii i dnes můžeme pozorovat, že nedochází pouze k zvětšování genomu, ale také k jeho zmenšování, jako tomu je u rodu *Secale* a *Triticale* (Gustafson et al. 1983). Dalším jevem je také diploidizace, kdy z polyploidního druhu se stává znovu diploid, tedy např. tertraploida, který se stal diploidem, můžeme označit také paleotertraploidem (Wolfe 2001). Mezi rostliny, které tímto procesem prošly, počítáme například *Zea mays* (Gaut 2001) nebo *Arabidopsis* (Vision et al. 2000).

Ploidní úroveň u příbuzných rostlin v některých případech ovlivňuje vlastnosti rostlin. Může to být například schopnost reprodukce, odolnost vůči patogenům, pesticidům, stresu z nedostatku živin, suchu, chladu nebo kompetici (Levin 1983). Právě takto změněné vlastnosti polyploidizací byly v minulosti využívány ke šlechtění a daly za vznik množství domestikovaných rostlin (Adams et Wendel 2005).

Průtoková cytometrie

Průtoková cytometrie se v botanice začala používat v 80. letech 20. století, předtím se používala převážně v medicíně. Je to metoda, při které se fluorescenčním barvivem fluorochromem obarví DNA odebraného vzorku, poté se vzorek ozáří světlem vhodné vlnové délky. Světlo zpětně uvolněné (excitované) se snímá filtry a převádí do elektronické podoby. Barviv jsou tři skupiny, první skupina nám dovoluje měřit celkový obsah nukleové kyseliny a je to látka propidium jodid a ethidium bromid, druhá skupina barviv se váže pouze na báze A-T, jsou to látky DAPI (známá histogamy s vysokou rozlišovací schopností), DIPI a Hoechst. Třetí skupina není tak používaná a váže se přednostně na G-C báze, sem patří antibiotika mitramycin, chromomycin a olivomycin. Průtoková cytometrie nám pomůže například při stanovování ploidie rostlin, kde se pracuje s relativním obsahem jaderné DNA nebo zjištění množství DNA, kde se používá absolutní hodnota genomu. Ta se udává v pikogramech (pg) nebo mega párech bází (MBP) (Suda 2005).

Cytometrie má oproti ostatním metodám zjišťování velikosti genomu jisté výhody, které bych rád zmínil. Vzhledem k tomu, že příprava jednoho měřeného vzorku není dlouhá a je jednoduchá, můžeme během jednoho dne změřit až několik desítek vzorků. Také náklady na jednu analýzu jsou malé, pohybují se do desítek korun. Díky tomu, že na jeden vzorek je potřeba cca 1 cm² rostliny, kterou analyzujeme, tak jednu a tu samou rostlinu můžeme použít i vícekrát. Tato vlastnost cytometrie může být také výhodná při studiu vzácných či ohrožených druhů. Na vzorek je možné také použít kromě plodů jakoukoli část rostliny, i když nejlepší výsledky bývají z listů, které jsou mladé (Suda 2005).



Graf 3: Velký pik - jádra v G1 fázi, malý pik - jádra v G2 fázi s dvojnásobným obsahem DNA (Suda 2005).

Mezi nevýhody měření cytometrem můžeme počítat velikost cytometru, která nám nedovoluje si ho vzít do terénu a nutnost pracovat s čerstvými vzorky odkazuje na přesuny z terénu do laboratoře a zpět. Přesnost měření je také negativně ovlivněna přítomností sekundárních metabolitů, které narušují vazbu mezi barvivem a DNA. Toto se týká například čeledí *Geraniaceae*, *Rosaceae*, *Crassulaceae* a také často jehličnanů, kaprad'osemenných a rostlin s CAM metabolismem (Suda 2005). Mezi další nevýhody můžeme počítat také nemožnost vizuální kontroly, což je možné u metody Feulgen densitometry (Arumuganathan et Earle 1991).

V grafu 3 můžeme vidět ukázkou histogramu z průtokového cytometru z analýzy mladého listu *Anthoxanthum odoratum*.

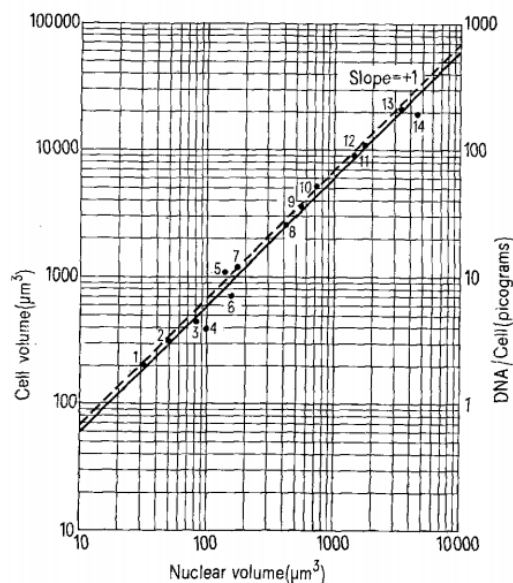
Velikost genomu a její souvislosti s funkčními vlastnostmi rostlin

Velikost genomu nám sice nic neříká o komplexitě organismu, ale existuje spousta prací, které se zabývají velikostí genomu a její souvislosti s druhovými funkčními vlastnostmi. Těmi bych se v této kapitole chtěl zabývat a poukázat na to, zda by vnější podmínky prostředí či vlastnosti rostlin mohly tvořit selekční tlak na velikost jaderného genomu rostlin.

Velikost buňky, velikost jádra a objem DNA

Van't Hof et Sparrow (1963) prokázali, že velikost genomu má vliv na několik zásadních charakteristik cyklu buňky. Byl to minimální čas buněčného cyklu, objem jaderného genomu v interfázi, DNA v buňce, počet chromozomů a množství DNA na chromozom. Ukázalo se zde, že čím je větší velikost DNA v jedné buňce, tím delší dobu trvá buněčný cyklus diploidní rostliny. Také prokázali, že objem jaderného genomu v interfázi a DNA v buňce není závislý na počtu chromozomů nebo objemu DNA na jeden chromozom. Tato data potvrzují také jiné články jako je (Bennett 1977), který porovnával délku meiózy s objemem jaderné DNA a výsledky byly podobné. Když se porovnávali jedinci stejné ploidie, tak byla pozorována pozitivní korelace mezi těmito charakteristikami (Bennett et Smith 1972).

Fakt, že rostliny s větším genomem mají větší velikost buněk, může tedy také souviset se zpomalením jejich metabolismu (Cavalier-Smith 1978).



Graf 4: Objem buňky/objem jádra/velikost DNA (pg) (Baetcke et al. 1967b).

Objem jaderné DNA a minimální generační doba

Minimální generační doba (m. g. d.) je minimální časový úsek, za který je rostlina schopna od vyklíčení přejít až po vyprodukování zralého semene. Tento čas se skládá z několika úseků životního cyklu rostliny. Tyto úseky jsou klíčení, vegetativní růst, kvetení a poté produkce semen.

Bennett (1972) porovnával charakteristiky, které ovlivňují m. g. d. Jednou z nich je délka buněčného cyklu, kde pozorování potvrdila teorii, že rostliny s krátkou m. g. d., budou mít také krátkou průměrnou dobu buněčného cyklu. Dále při porovnání 24 druhů rostlin, byla průměrná délka meiózy devíti jednoletků 39,2 h a průměrná délka meiózy třinácti vytrvalých rostlin 133,9 h. Osm rostlin, které měly tuto dobu nejkratší, byly druhy roční nebo fakultativně vytrvalé. S rostoucí C-hodnotou roste i doba samotné meiózy, toto však platí pouze, když se porovnávají rostliny se stejnou ploidní úrovní. U rostlin, které jsou polyploidní, je rychlost meiózy rychlejší, vztáhneme-li rychlost k objemu jaderné DNA (Bennett 1977).

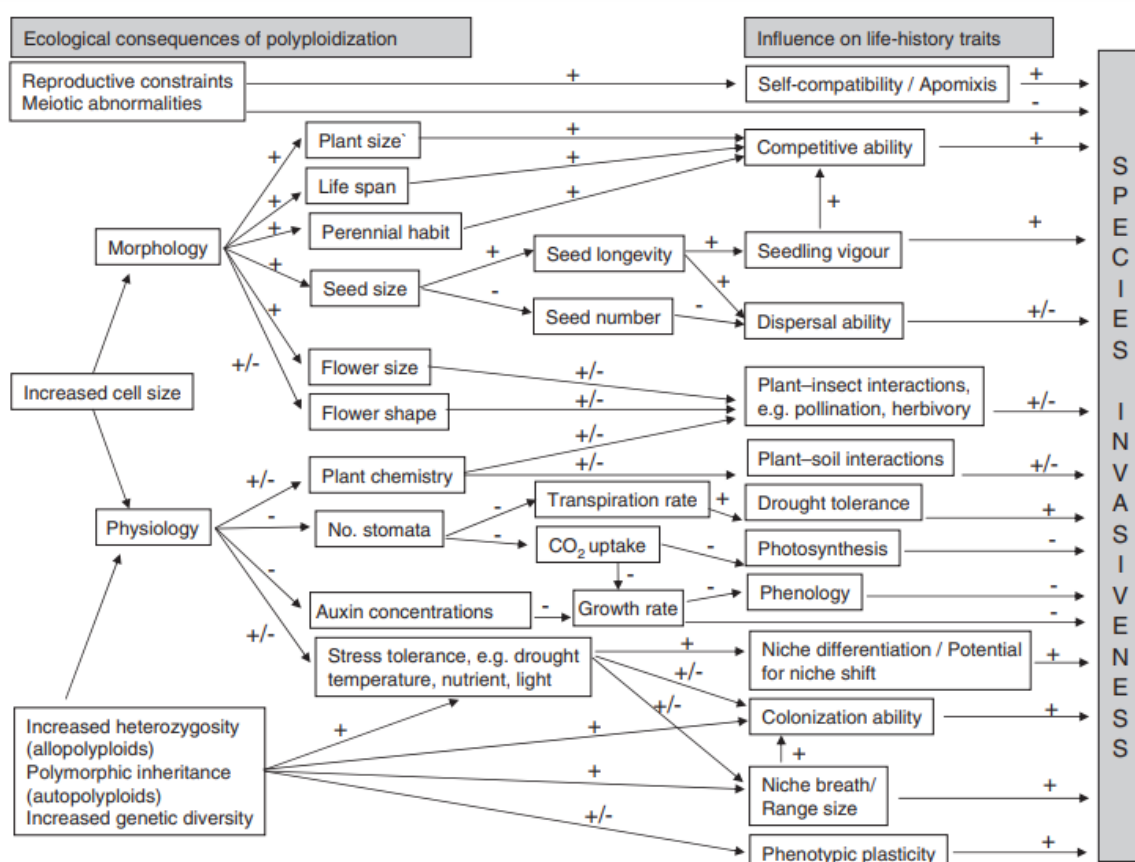
V uvedené studii bylo provedeno porovnání obsahu DNA a délky života interspecifických rostlin, tedy je-li rostlina roční či vytrvalá. Byly porovnávány odděleně rostliny jednoděložné a dvouděložné a v rámci těchto dvou skupin pak diploidní a polyploidní. Výsledek u obou ukázal, že jednoletky měly menší průměrný obsah DNA než vytrvalé. Rozsah velikostí objemu jaderné DNA u ročních rostlin byl menší než rozsah mezi vytrvalými. Také v porovnání jen v rámci ročních rostlin měly efemérní druhy významně menší obsah DNA (21,0 pg pro 103 druhů) než ty, co nebyly efemérní (4,6 pg pro 5 druhů) (Bennett 1972).

Mezi další charakteristiky vypovídající o DNA obsahu můžeme započítat i velikost pylu, kde bychom našli vztah: čím větší pyl, tím větší obsah DNA. Také porovnání v rámci skupiny rostlin s podobnou morfologií a životním cyklem ukázala, že u rostlin s vyšší hodnotou jaderné DNA pravděpodobně najdeme větší hmotnost semen ((Bennett 1972).

Shrneme-li si všechny tyto charakteristiky, mohli bychom předpokládat, že rostliny s větším obsahem jaderné DNA budou rostliny spíše vytrvalé, s delší meiózou, pomalejším buněčným cyklem, větším pylem a semeny. To vše naznačuje, že tyto rostliny budou mít i delší m. g. d. a naopak tomu bude u rostlin s malým obsahem jaderné DNA (Bennett 1972).

Objem jaderné DNA a schopností invaze rostlinných druhů

Te Beest et al. (2011) se soustřeďují na to, zda polyploidní rostliny dokážou lépe invadovat do nových míst a také, jakými způsoby velikost/znásobení genomu ovlivňuje vlastnosti, které by měly mít souvislost se schopností invaze rostlin. Jsou to široká tolerance prostředí, schopnost sebe reprodukce, efektivní disperze, vysoká relativní rychlost růstu, vysoká schopnost kompetice, a také vyhnutí se efektu hrdla láhve nebo efektu zakladatele (Baker 1965; Levin 2000).



Graf 5: Ekologické důsledky polyploidizace (Te Beest et al. 2011).

Chtěl bych zde několik těchto vlastností zmínit, jelikož by tyto vlastnosti zvyšující schopnost invaze mohly mít souvislost s výskytem rostlin na narušených místech, (jako je například průmyslová deponie) a jejich ploidním stupněm, resp. velikostí genomu.

První z nich je velikost buněk, jak už jsem zmínil výše. Polyploidní rostliny mají větší objem buněk a s tím souvisí i nižší rychlost růstu a také pozdější doba reprodukce (Cavalier-Smith 1978). Další z vlastností je, že polyploidní rostliny jsou obecně robustnější a vyšší. Také mají větší květy a semena (Garbutt et Bazzaz 1983; Levin 2002). Je zde také jistý posun taktiky rostlin od generativního rozmnožování k vegetativnímu, například u květů *Lamium amplexicaule* (Bernstrom 1950). Tato velikost semen je zvýhodňuje při osidlování nových

stanovišť při kompetici s okolními druhy rostlin. Tento trend byl sledován u *Solidago gigantea* (Schlaepfer et al. 2010).

Jako jeden z dalších rozdílů, kterými se liší polyploidní rostliny od jejich diploidních příbuzných, bych mohl zmínit jejich vodní režim. Jejich listy mají typicky v menším počtu, ale větší průduchy a tlustší vrstvy epidermis, což má za následek menší ztráty vody skrze listy. Tento jev byl zkoumán u *Betula papyrifera* (Li et al. 1996), nebo *Hordeum vulgare* (Chen a Tang 1945).

U polyploidních druhů je také zřejmý posun k vytrvalejšímu způsobu života, tedy větší procento polyploidů ve vytrvalých a lesních společenstvech (Müntzing 1936; Sano 1980). Další charakteristikou polyploidů je také vyšší koncentrace sekundárních metabolitů, což může vést k rozdílným interakcím s biotickou částí ekosystému a také nižší koncentrace fytohormonu auxinu (Avery Jr et Pottorf 1945; Garbutt et Bazzaz 1983).

Postindustriální deponie

Je člověkem vytvořený útvar sypkého materiálu, který vznikl buď jako sekundární produkt či meziprodukt při těžbě nerostných surovin, odpad z topeniště nebo z jiného průmyslově-technologického procesu. Dále se deponie mohou dělit. **Odval** je navršení materiálu v blízkosti lomu či štoly, **výsypka** či **halda** je objekt, který velikostí převyšuje odval, vzniká hromaděním materiálu ve větší vzdálenosti od samotné těžby, nebo může vznikat v blízkosti míst, kde se materiál druhotně zpracovává. **Sejp** vzniká často v blízkosti toků po předešlé těžbě zlata či kasiteritu (z něhož se získává cín), je to nahromaděný materiál, který byl proplavený a nachází se v něm zpravidla malé procento hlíny (Kučová et al. 2014). **Odkaliště** vznikají míšením strusko-popílkového materiálu nebo rozmělněného rudního odpadu a vody a posléze vstřikováním do takzvaných kalojemů (sedimentačních nádrží). Na takto vznikajících objektech se často pod povrchem vytváří vymýváním a opětovným srážením po ukončení provozu půdní krusta. Tato krusta pak brání nebo zpomaluje sukcesi tím, že blokuje růst kořenů, zejména dřevin, deformuje je a limituje příjem vody, samotný povrch představuje extrémní mikrostanoviště – v létě přehříváný a zasolený “film”, kde se obtížně etabluje iniciální vegetace (Kovář 2004, Kovář et al. 2009).

Postindustriální deponie v ČR

Jak už jsem psal v úvodu, krajina, která je ovlivněna těžbou a v České republice, zabírá okolo 0,89% plochy, tedy 700 km² (Prach et al. 2009). Takto těžbou ovlivněnou krajinu bychom mohli rozdělit na několik odlišných typů. Výsypky vzniklé těžbou uhlí nebo rud, a poté navršením zbylého materiálu, se nacházejí převážně na Mostecku, Sokolovsku, Ostravsku nebo Kladensku. Není vždy lehké rozdělit jednotlivé výsypky, ale jejich počet se dá odhadnout na cca 70 a rozlohou zabírají okolo 270 km². Většina výsypek byla či průběžně je rekultivována a některé, ať už záměrně či nezáměrně (např. nedostatek financí) byly ponechány přirozené sukcesi. A právě tyto výsypky jsou z hlediska zkoumání sukcese na takovýchto místech velice hodnotné (Řehounek et al. 2010).

Strusko-popílkové odkaliště

Při spalování uhlí vzniká velké množství odpadu, kterým je popílek. Je více možností, jak nakládat s takto vzniklým odpadem. I když má popílek jako materiál široké využití ve stavebnictví, tak je nejčastěji ukládán do uložišť, a to buď suchou cestou, kdy jsou haldy tvořeny vršením suchého popílku, (který má ovšem velkou prašnost), nebo se popílek vrší do nádrží a lagun a vznikají strusko-popílková odkaliště. Ještě je tu jeden způsob nakládání s popílkem, a to smícháním vody, popílku, strusky s energosádrovcem, což je produkt odsíření. Poté vzniká takzvaný stabilizát, ztuhlá hmota, u které odpadá problém s erozí a prašností. Tato odkaliště se často nacházejí v nížinách blízko vodních toků a obklopuje je zemědělská krajina (Řehounek et al. 2010).

Rudní odkaliště

V dnešní době je většina rudních odkališť v České republice neaktivní a zrekultivována. Kvůli toxicitě substrátu je často rekultivace nutná, aby se zabránilo roznesení toxického materiálu po okolí. Většinou se tedy odkaliště překryje zeminou a v některých případech (těžba uranových rud) se i překryje speciální folií. Proto je těžké najít odkaliště, kde by místo technické rekultivace bylo odkaliště ponecháno přirozené sukcesi. Jedno z takových míst je odkaliště ve Chvaleticích, které se nachází v blízkosti bývalého povrchového lomu na pyrit a je také důkladně popsáno mnoha studiemi. Právě na tomto odkališti bychom se mohli podívat na abiotické podmínky. Nachází se zde velké množství těžkých kovů, které byly naměřeny v nadzemní biomase rostlin. Je to například Pb, Mn, Fe, Al, Zn, Cu, Cd, Ag a Hg. Také má kyselý substrát, který může dosahovat v extrémních případech až hodnoty pH 3. Sulfid vznikající zde ze zvětralých minerálů také způsobuje zvýšenou salinitu substrátu (Kovář 2004; Řehounek et al. 2010).

Technologie vršení

Odkaliště vznikají tak, že se odpad ve formě popílku smíchá s vodou za vzniku suspenze, která je vedena a vstřikována do kalojemů neboli nádrží. Poté, co se nádrž naplní, zvýší se jak okraje odkaliště, tak potrubí, které kal vede. Postupně tak vzniká nádrž obsahující kal, která se může tyčit až do výšky osmnácti metrů. Díky tomuto způsobu vršení vzniká gradient velikosti částic, které tvoří odkaliště a tímto se liší od jiných deponií, které vznikly jiným způsobem vršení. Tento gradient může posléze ovlivňovat osidlování tohoto místa (Kovář 2004).



Obrázek 2: Opuštěná drenážní věž zarůstající mladým lesem ve chvaletickém odkališti.

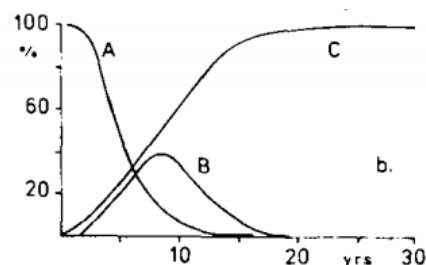
Chvaletické odkaliště

V roce 1952 u obce Chvaletice započala těžba za účelem výroby síry. Cílovým produktem byl pyritový koncentrát, který obsahoval okolo 38 % síry (Kovář 1979). Při jeho výrobě vznikal odpadní rudní materiál, který se deponoval postupně, pomocí hydraulického transportu potrubím, do tří odkališť. Tento odpad obsahoval asi 3% síry a 5-10 % těžkých kovů. Tato tři odkaliště měla dohromady rozlohu 113 hektarů. První dva útvary, které zde vyrostly, byly dokončeny, a poté rekultivovány tak, že se přehrnuly orníci z okolí a osety směsicí trav. Třetí

odkaliště nebylo naplněno do své maximální kapacity a od poloviny 80. let 20. století bylo ponecháno nerektifikované (Kovář 2019).

Sukcese rostlinných společenstev na deponiích

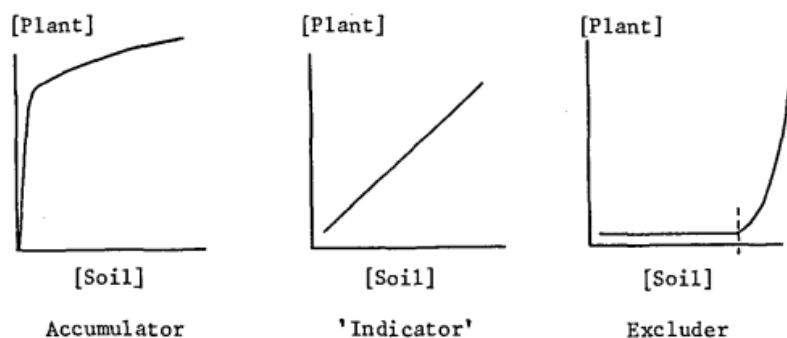
Když vzniká odkaliště, ať už vstřikováním suspenze do kalojemů či jiným způsobem, tak materiál, z kterého je tvořena, pochází cca z hloubky 0-200 metrů pod zemí a ve výsledném uskladněném materiálu se nenacházejí diaspory rostlin. O ekosystému, který vznikl takovým způsobem, bychom tedy mohli říci, že prochází primární sukcesí (Šourková et al. 2005; Walker et Del Moral 2003). Poté se postupně začíná deponie obohacovat diasporami přenesenými z okolí, což má zásadní význam pro její další vývoj. Když se tam semena dostanou, jsou dva základní důležité faktory. Jedná se především o klíčení a mortalitu rostlin závisících na abiotických podmínkách prostředí (dostatek vody) ještě před tím, než se rozmnoží. Semena se mají tendenci akumulovat v prohlubních díky gravitaci a transportu vody. Tyto prohlubně poté oplývají větší druhovou diverzitou než vrcholky, které mohou delší dobu zůstat holé. V prvních letech dominují rostliny roční či dvouleté (např. *Senecio viscosus* nebo *Polygonum lapathifolium*). Tuto dominanci ztrácí zhruba do 15. roku vývoje výsypky, kdy začínají dominovat druhy vytrvalé (např. *Tanacetum vulgare*). Ty díky často hlubšímu kořenovému systému lépe přečkají sušší období. V tomto období se pokryvnost vegetace může blížit až 100 %. Dřeviny, se díky špatným abiotickým podmínkám a velké konkurenci bylin nedokážou plně prosadit. Výjimkou je však *Sambucus nigra*, který můžeme najít už v prvních letech sukcese. Mezi další dřeviny pozdějších sukcesních stádií bychom zařadili například *Betula pendula*, *Fraxinus excelsior*, *Acer pseudoplatanus* či *Salix caprea*. Tyto dřeviny se vyskytují spíše roztroušeně a jejich pokryvnost se pohybuje okolo 10 % (Prach 1987, Prach et al. 2016).



Graf 6 - míra zastoupení pokryvnosti A-jednoletých, B-dvouletých, C-vytrvalých rostlin ve vývoji vegetace výsypky (Prach 1987)

Způsob nakládání s těžkými kovy

Těžké kovy - rostliny, které dokáží žít a rozmnožit se na substrátech kontaminovaných těžkými kovy nazýváme metalofyty (angl. Metallophytes, např. Baker et Proctor 1990). Dokázat se vyhnout příjmu těžkých kovů je velice obtížné, a proto musí často tyto těžké kovy akumulovat do své biomasy (Peterson 1975). Tyto rostliny bychom mohli rozdělit do tří skupin. **Akumulátoři** (accumulators), kde jsou kovy koncentrovány v nadzemních částech rostliny, **indikátoři** (indicators), kde příjem a transport kovů do prýtu je regulován, a tudíž odráží vnější úroveň toxicity v půdě, a



Graf 7 - Vztah mezi množstvím kovů v rostlině (PLANT) a množstvím kovů v půdě (SOIL) (Baker 1981).

Obrázek 3: Zasolený povrch substrátu, který brání sukcesi.



Obrázek 4: Postupné prorůstání keřového sukcesního stádia stromy.

rostliny, které dokáží udržovat hladinu kovů v prýtu dlouhodobě nízkou až do hraniční hodnoty toxicity okolí, a poté se koncentrace kovů v těle rostliny zvýší (excluders) (Baker 1981). Popsáno v grafu 7.



Obrázek 5: nejstarší sukcesní stádium na nerektivovaném odkališti se zápojem dřevin

Potenciální aplikace studia genomů v ekologii obnovy

V této části své práce bych chtěl zmínit odvětví, v kterých by se případně dalo aplikovat studium zabývající se velikostí genomu a spojenými vlastnostmi rostlin na člověkem narušených stanovištích.

Ekologie obnovy

Jde o vědní obor, do značné míry aplikovaný, který se zabývá obnovou (restoration), různými způsoby narušených ekosystémů, společenstev nebo populací. Ekologická obnova se uplatňuje s cílem:

1. Obnovit přírodní charakter lokalit, které byly silně narušeny.

2. Zlepšit produkční schopnosti stanovišť, které byly využívány k produkci a tím byly degradovány. Tedy je zde snaha navrátit produkční vlastnosti těchto krajín na trvale udržitelnou úroveň.
3. Udržet přírodní hodnotu chráněných krajín, které by mohly být ohrožovány například invazními druhy, znečištěním či efektem fragmentace.
4. Posílit přírodní hodnotu produkčních krajín.

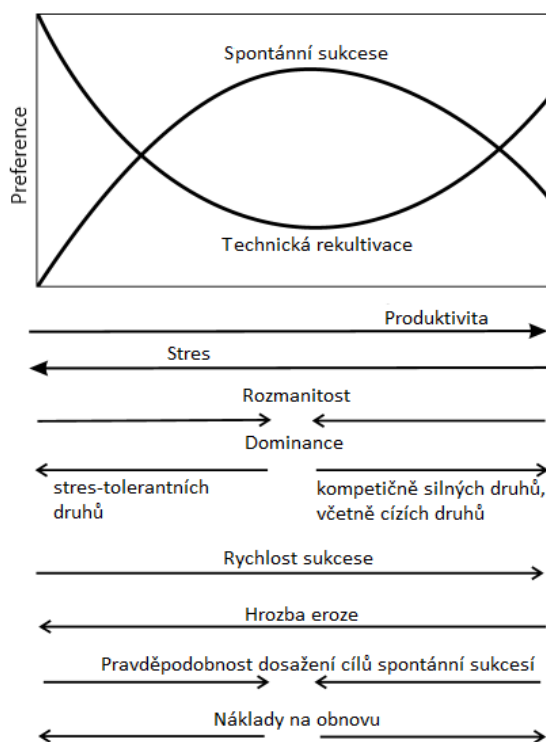
Součástí obnovy je několik klíčových procesů, které ji činí založenou na ekologických vědních poznatcích.

1. Identifikace procesů, které vedly k degradaci či úpadku.
2. Vytvoření metod k odvrácení či zmírnění degradace.
3. Stanovení reálných cílů celého procesu obnovy.
4. Vytvoření měřitelných parametrů, které by se daly sledovat.
5. Vytvoření postupů, které se dají aplikovat pro dosažení cílů, jež se stanovily.
6. Použití těchto postupů v realizaci obnovy.
7. Monitoring a posuzování, zda byly dosaženy stanovené cíle.

Tyto kroky napomáhají k trvalé obnově dříve narušené, či stále narušované krajíně (Hobbs et Norton 1996).

Přístupy k obnově narušeného nebo zcela zničeného prostředí se často liší a je zde otázka, jak velkou měrou bychom měli do narušené lokality zasahovat. Můžeme tuto lokalitu nechat naprosto přirozené sukcesi pro kterou mluví několik výhod, které má oproti lidmi řízené rekultivaci, a to jsou často nižší náklady nebo vyšší druhová diverzita výsledné krajiny. To však nebývá pravidlem a záleží na tom, jakým způsobem se provádí obnova a na podmínkách v místě obnovované lokality. Obecně bychom ale mohli vyvozovat pravidlo, že čím jdeme na škále stresu a produktivity do extrémnějších podmínek, tím více je technická rekultivace vhodnější. Tento jev popisuje graf 8, který ukazuje nejen výhodnost technické rekultivace vzhledem k stresu a produktivitě v prostředí, ale i rizika eroze za stresových podmínek na otevřeném prostranství, a také rychlost sukcese, pravděpodobnosti dosažení cílů rekultivace a odhad finanční náročnosti zásahu (Prach et Hobbs 2008).

Jelikož ekologie obnovy vychází z ekologických poznatků, tak jakékoli nové skutečnosti týkající se ekologie rostlin i živočichů mohou pomoci v budoucnu usnadnit obnovu narušených či zcela zničených míst.



Graf 8: Přeloženo z Prach a Hobbs (2008).

Ekotoxikologie

Jde o vědní odvětví, ve kterém se spojují dvě disciplíny, a to ekologie a toxikologie a zabývá se škodlivým vlivem chemických látek na ekosystémy, jedince či celé populace, ale také recipročně: vlivem živých složek přírody na transport látek v prostředí. Škodlivé chemikálie se zpravidla označují jako polutanty. Dalším termínem spojeným s ekotoxikologií jsou kontaminanty, což jsou látky, které se v přírodě vyskytují v míře vyšší než bychom mohli posoudit jako přirozené, často je však ne zcela jasné, co je a co není přirozené množství a nakolik životním procesům škodí (Walker et al. 2016).

Výše jsem zmiňoval různé druhy rostlin, které se dokáží vypořádat se substráty kontaminovanými těžkými kovy. Právě tyto rostliny se mohou používat také k znovuosídlování toxických substrátů a k zlepšování jejich půdních vlastností (Plenderleith et Bell 1990). Tomuto procesu se říká bioremediace, tedy proces zlepšování vlastností substrátu a často snižování toxicity za použití živých organismů, a to například mikroorganismů či rostlin. U rostlin tomu můžeme říkat fytořemediace (Petrová et al. 2013). Jako příklad lze uvést studii Dushenkov et al. (1997), kde byly použity hydroponicky pěstované slunečnice k akumulaci uranu z kontaminované vody a kde byla důležitá schopnost těchto rostlin hromadit uran v jejich těle.

Díky výsledkům ekotoxikologie, která se zabývá vlivem polutantů na organismy, reakcemi těchto organismů a šíření toxických látek v ekosystémech podél potravních řetězců můžeme lépe porozumět tomu, jak nejlépe použít, pomocí bioremediace, některé z těchto organismů k nápravě kontaminovaných substrátů či jiných stanovišť.

Diskuse

Pro odpověď na otázku položenou v zadání k této práci, tj. zda mají rostliny kolonizující disturbovaná či stresovaná místa "uvnitř" odkališť menší genomy než příbuzné taxony rostoucí "vně" odkališť si musíme ozřejmit, jaké podmínky panují na těchto lokalitách a jakým způsobem to ovlivňuje velikost jaderné DNA u rostlin schopných zde přežít. Funkční význam velikosti genomu je zřetelný podle studií, které se tímto tématem zabývají (dříve zmiňované např. Bennett 1977, Cavalier-Smith 1978,) a tato bakalářská práce odkazuje pouze na část těchto studií. Nicméně zmiňované práce si občas navzájem protiřečí (Bennett 1976, Grime et Mowforth 1982). Proto je třeba se na tyto výsledky dívat ze širšího hlediska jako na celek souběžně s více studiemi. Také je zde otázka, jak je ovlivněna velikost genomu polyploidizací, resp. z publikací vyplývá, že i zmnožení sad chromozomů rostlin nemalou měrou ovlivňuje jejich vlastnosti (Te Beest et al. 2011).

Co se týče podmínek na odkalištích, ty se často různí (např. Bryndová et Kovář 2004, Urbanová et al. 2017). Nicméně tam, kde se těžily rudy, můžeme očekávat, že jimi bude substrát stále znečištěn, jako tomu je u chvaletického odkaliště (Kovář et al. 2012). Na čerstvě vzniklých odkalištích můžeme také najít, díky holému substrátu, extrémnější teploty během nejteplejších a nejchladnějších měsíců roku (Kovář 1979).

Vlastnosti, které tedy zvýhodňují druhy s malým genomem či druhy, které nejsou polyploidní, je menší velikost semene, tedy snadnější osídlení těchto lokalit bezprostředně po jejich vzniku, a s tím by mohla souviset i lepší schopnost usídlit se, tedy stát se druhem v daném prostředí naturalizovaným. Dále pak lepší schopnost růst na substrátech kontaminovaných těžkými kovy, kratší doba buněčného cyklu i samotné meiózy, a výhoda kratšího životního cyklu těchto druhů (tedy schopnost přežívat rychle se měnící podmínky). Druhy také lépe umějí přežít v extrémních podmínkách co se týče teplotních výkyvů.

Jako sporná by se mohla zdát vlastnost polyploidů lépe hospodařit s vodou a zjištění, že rostliny s větším genomem ubývají s rostoucí teplotou (Li et al. 1996, Chen et Tang 1945, Knight et Ackerly 2002). Proč tomu tak je by vyžadovalo další zkoumání.

Závěrem bych tedy shrnul, že rostlinné druhy s menší velikostí genomu by opravdu mohly být zvýhodněny na stanovištích, která jsou narušena těžbou. Prací, které byly publikovány na téma spojující vlastnosti rostlin a velikost genomu či ploidie, je dostatek. Proto by bylo vhodné těchto poznatků využít v souvislosti s obnovou narušovaných krajín a zabývat se tímto tedy i v budoucnu. Bylo by také užitečné využít pro měření velikosti genomu rostlin na těchto stanovištích standardizovanou metodu průtokovou cytometrii.



Obrázek 6: Terestrická orchidej bradáček vejčitý (*Listera ovata*) vyskytující se na nerekulitovaném odkališti ve Chvaleticích.

Shrnutí

V této práci jsem citoval studie, zabývající se na úrovni rostlinného organismu dvěma vztahy. První z nich je vztah velikosti genomu a funkčních vlastností. Druhý je vztah ploidie a funkčních vlastností rostlin. Tento vztah jsem se pokusil shrnout v tabulce 3. Také bych k ní rád dodal několik poznámek. Rostliny s větším genomem bychom mohli najít spíše v podmínkách, které nejsou příliš extrémní, co se týče teplot, obecně větší genom mají jednoděložné než dvouděložné a rostliny, které jsou spíše krátkověké než vytrvalé.

Tabulka 3: Znaménko ukazuje vztah vlastnosti rostlin a velikosti genomu. – negativní závislost, + pozitivní závislost.

vztah k velikosti genomu	vlastnosti rostlin/podmínky prostředí
+	roční srážky
-	teplota
+	velikost semene
-	schopnost naturalizace
-	výskyt na substrátu kontaminovaného těžkými kovy
+	délka buněčného cyklu
+	délka meiózy
+	velikost pylu

Dále vztah k ploidii rostlin jsem shrnul v tabulce 4. Také je zde pozorován posun strategie ke generativnímu rozmnožování a též mají často větší pravděpodobnost že budou produkovat sekundárních metabolitů.

Tabulka 4: Znaménko ukazuje vztah vlastnosti rostlin a velikosti genomu. – negativní závislost, + pozitivní závislost.

vztah k ploidii	vlastnosti rostlin
+	velikost buněk
+	robustnost a výška těla
+	lepší hospodaření s nedostatkem vody
+	množství sekundárních metabolitů

Lidská populace působí na krajinu na celé planetě různými způsoby. Volná krajina je přeměňována na města, zemědělskou krajinu, na místa uložení odpadů, na rekreační plochy (jezera, parky atd.) doly nebo zpět na krajinu, která se podobá krajině původní dané lokality. Porozumění vztahům mezi organismy a jejich vlastnostmi v takovýchto prostředích je klíčové k tomu, abychom tyto zásahy mohli provádět efektivně, trvale udržitelně a prospěšně pro lidské populace i organismy na území žijící.

Je zde pak důležité zjištění, že konkrétně v České republice je mnoho lokalit narušených těžbou, zejména pak po těžbě uhlí nebo skládkováním odpadu ze spaloven, resp. tepláren a elektráren. Tyto lokality dále podstupují rekultivaci či renaturace, avšak není vždy jasné, jaký způsob je nejvhodnější či nejefektivnější. Můžeme je také ponechat přirozené sukcesi či použít některé z rostlin k fytoremediaci.

Experimentální část

V této části bych rád velice stručně popsal a okomentoval metodiku a výsledky předběžného zpracování dat, které jsme s mým školitelem společně nasbírali a posléze za pomoci konzultanta této práce a týmu cytometrické laboratoře změřili.

Metodika

V období od 1. 6. 2018 do 4. 7. 2019 bylo sebráno 119 druhů rostlin na chvaletické, (nerekultivovaném) odkališti a okolí, zelené listové, příp. stonkové části byly ve zvlhčeném mikrostředí v igelitovém obalu označeny dle nomenklatury Kubát et al. (2002) a posléze odneseny do cytometrické laboratoře. Měření proběhlo za pomoci propidium jodit (PI) barvení na průtokovém cytometru (Partec – CyFlow SL). Každá rostlina, spolu s interním standardem byla měřena třikrát, minimálně dva různé dny. Z těchto tří měření je jedna průměrná výsledná 2C-hodnota genomu v pikogramech (pg). Pro každou rostlinu byl také určen sektor, v kterém se v rámci makrolokality (odkaliště a okolí) vyskytuje. Tyto sektory jsou v základním dělení dva: okolí odkaliště (O), a vnitřní část odkaliště (V) podrozdělená k detailnějšímu zkoumání na dva stanovištně odlišné typy, (1) přetrvávající otevřené plochy s původním (toxickým) substrátem, tedy bezlesí (VB), do značné míry odolávající masivnějšímu osidlování vegetace, a (2) sukcesně pokročilejší část odkaliště (VL), která za 40 let vývoje nerekultivovaného odkaliště prošla sukcesním vývojem směrem k lesu (podmínky pro rostliny tu vykazují jisté zlepšení).

Výsledky

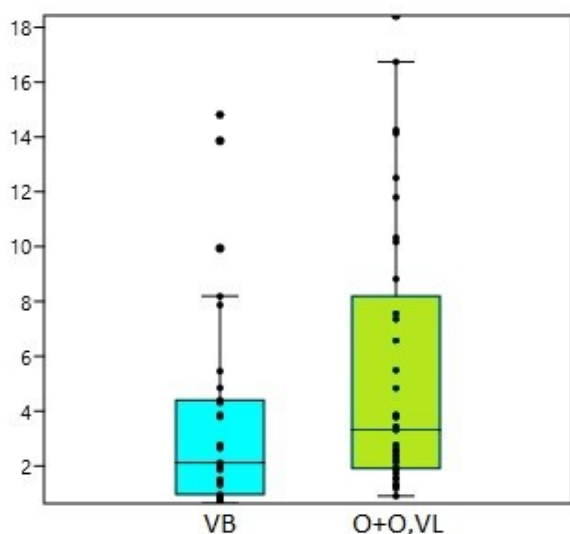
Své výsledky jsem se pokusil hodnotit dvěma způsoby.

- 1) Porovnání průměrné C-hodnoty napříč všemi druhy bez přihlédnutí na jejich příbuznost.

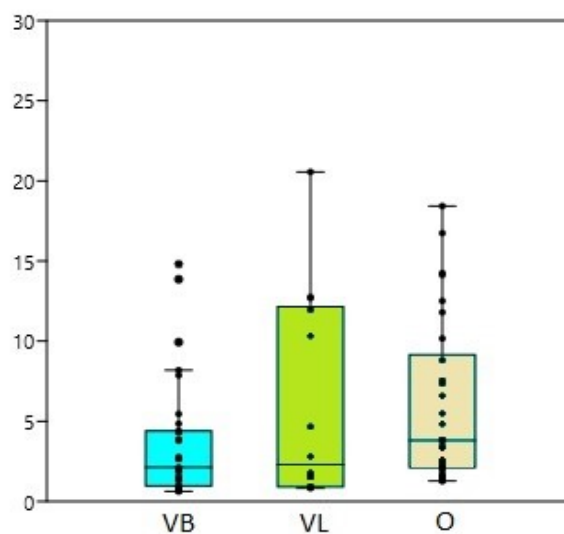
Tato porovnání jsem prováděl dvě. První z nich je srovnání dvou skupin rostlin a to těch, které ve vyskytují pouze uvnitř odkaliště na otevřených plochách, tedy v bezlesí (VB), s rostlinami, které se vyskytují v okolí odkaliště (O), k nimž jsou přiřazeny druhy, které jsou vázány na nejpokročilejší zatím dosažené sukcesní stadium uvnitř odkalištní plochy, tj. stadium s mladým lesním zápojem (VL). Stojí za tím úvaha, že pokročilá sukcese natolik balancuje dříve extrémní substrátové prostředí, že to dovoluje silnější uplatnění druhů s větším genomem, podobně jak to vstupní hypotéza deklaruje pro druhy z okolí odkaliště (O).

Na grafu 9. můžeme vidět 31 druhů vyskytujících se uvnitř výsypky v porovnání s 37. druhy, které rostou v okolí nebo se vyskytují na zalesněné vnitřní části odkaliště a v jeho okolí. Je zde např. viditelný rozdíl mezi druhem *Vicia angustifolia* vyskytujícím se uvnitř odkaliště, s velikostí genomu 3,79 pg (diploid) a *Vicia cracca* s velikostí genomu 11,8 pg (tedy více jak třikrát větší než u předešlého druhu), která roste v okolí odkaliště, jde o konkurence-schopný tetraploidní taxon. (Pladias. Databáze české flóry a vegetace. www.pladias.cz [online]). Tyto a další podobné případy rostlin, stejně jako graf 9 naznačují, že by vstupní hypotéza měla být pravdivá.

V druhém porovnání jsou 3 skupiny. Rostliny, které se vyskytují výhradně na VB, VL, a O (viz graf 10). Z tohoto grafu můžeme vyčíst, že největším genomem disponují rostliny uvnitř



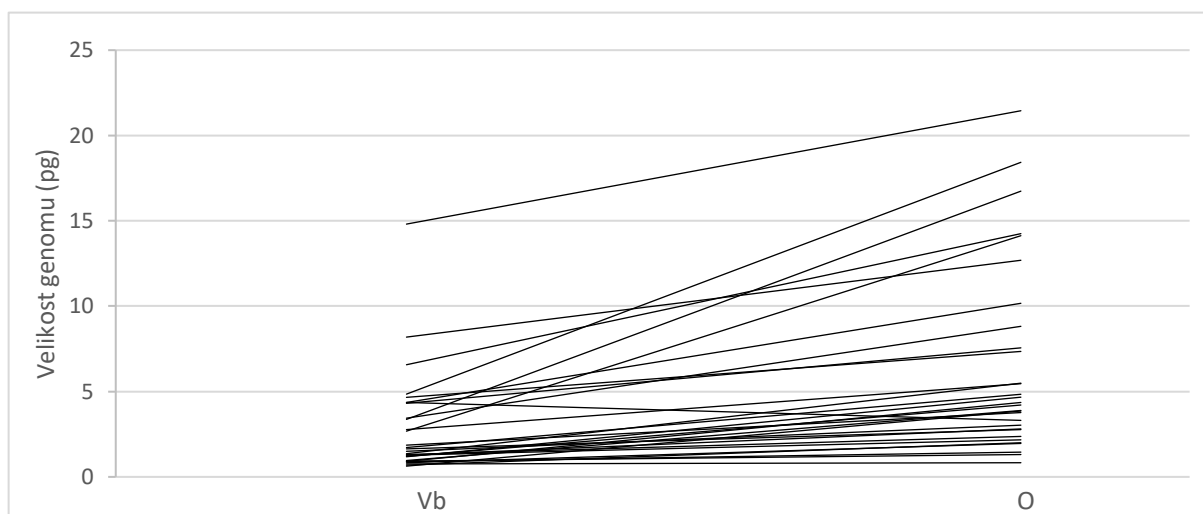
Graf 9: Svisle – velikost c-hodnoty v pikogramech, VB – vnitřní část odkaliště, O – Okolí odkaliště, VL vnitřní zalesněná část odkaliště.



Graf 10: Svisle – velikost c-hodnoty v pikogramech, VB – vnitřní část odkaliště, O – okolí odkaliště, VL vnitřní zalesněná část odkaliště.

odkaliště na ploše zarostlé stromy, a nejmenšími genomy disponují rostliny, které rostou na obnaženém povrchu vnitřní části. Zde je sukcese zpomalována toxicitou a obecně extrémními podmínkami. Druh *Festuca ovina* vyskytující se na vnitřní bezlesé části odkaliště s genomem 4,85 pg, u které se pohybuje počet sad chromozomů od dvou až po šest, má více jak čtyřikrát menší genom než jiné druhy z rodu *Festuca*. Druh *Festuca rubra* s 18,43 pg. (hexaploidní) roste na loukách v okolí odkaliště a také *Festuca gigantea* s 20,56 pg. (hexaploidní) tedy s největším

genomem z těchto tří druhů, roste na zalesněných svazích odkaliště (Pladias. Databáze české flóry a vegetace. www.pladias.cz [online]). S přihlédnutím k ploidní úrovni těchto tří rostlin bychom se mohli domnívat, že rozdíl ve velikosti je dán polyploidizačními událostmi.



Graf 11: Zobrazuje spojnice dvou bodů - velikostí genomu párů rostlin. Nalevo jsou rostliny ze stanoviště VB, napravo pak z O. Rozdíl velikostí genomu v páru je znázorněn sklonem spojníc.

2) Srovnání dvojic fylogeneticky blízkých druhů.

Evoluční historie rostlin může silně ovlivnit jejich vlastnosti a odezvy na různé události (Felsenstein 1985). Proto je dobré při jejich testování přihlížet k fylogenetickému původu. Porovnávaná skupina rostlin zahrnuje 32 druhů, tedy 64. druhů, přičemž prvních 20 jsou druhy stejného rodu a zbytek (21 – 31) obnáší reprezentanty různých rodů v rámci jedné čeledi. Skupina je rozdělena do párů a jeden z páru se nachází vždy na vnitřní bezlesé části odkaliště a druhý v jeho okolí (Tab. 5). Všechny páry až na 16. (*Veronica verna* - VB, *Veronica chamaedrys* - O) měly zástupce z vnějšku odkaliště s větší 2C - hodnotou než z bezlesé vnitřní části. Za použití párového Studentova t-testu byl tento soubor testován, zda je tento výsledek směřodátný. Výsledek tohoto testu byl $p=1,5306 \cdot 10^{-6}$ tedy procento možnosti náhody se ukázalo jako malé ($p < 0,5$).

Tabulka 5

Číslo páru	Stanoviště – VB	2C - hodnota(pg)	Stanoviště - O	2C - hodnota(pg)
1.	<i>Vicia angustifolia</i>	3,79	<i>Vicia cracca</i>	11,8
2.	<i>Trifolium arvense</i>	0,83	<i>Trifolium pratense</i>	1,96
3.	<i>Lathyrus tuberosus</i>	14,81	<i>Lathyrus sylvestris</i>	21,45
4.	<i>Geranium pusillum</i>	1,72	<i>Geranium pratense</i>	4,84
5.	<i>Galium aparine</i>	1,86	<i>Galium album</i>	3,77
6.	<i>Rumex acetosella</i>	4,66	<i>Rumex acetosa</i>	7,35
7.	<i>Euphorbia peplus</i>	0,63	<i>Euphorbia esula</i>	3,86
8.	<i>Potentilla reptans</i>	1,27	<i>Potentilla argentea</i>	2,17
9.	<i>Erigeron canadensis</i>	0,91	<i>Erigeron annuus</i>	4,36
10.	<i>Hieracium bauhinii</i>	8,19	<i>Hieracium laevigatum</i>	12,69
11.	<i>Cirsium arvense</i>	2,77	<i>Cirsium vulgare</i>	5,46
12.	<i>Sonchus asper</i>	1,5	<i>Sonchus oleraceus</i>	3,03

13.	<i>Solidago canadensis</i>	1,2	<i>Solidago gigantea</i>	4,21
14.	<i>Plantago major</i>	1,36	<i>Plantago media</i>	5,49
15.	<i>Acer negundo</i>	0,92	<i>Acer platanoides</i>	1,31
16.	<i>Veronica verna</i>	4,36	<i>Veronica chamaedrys</i>	3,31
17.	<i>Carex hirta</i>	0,76	<i>Carex muricata</i>	0,83
18.	<i>Festuca ovina</i>	4,85	<i>Festuca rubra</i>	18,43
19.	<i>Poa annua</i>	4,36	<i>Poa trivialis</i>	10,17
20.	<i>Agrostis stolonifera</i>	4,31	<i>Agrostis tenuis</i>	7,56
21.	<i>Hypochaeris radicata</i>	2,68	<i>Tanacetum vulgare</i>	14,13
22.	<i>Dipsacus sylvestris</i>	6,57	<i>Knautia arvensis</i>	14,25
23.	<i>Echium vulgare</i>	1,64	<i>Symphytum officinale</i>	2,77
24.	<i>Spergularia rubra</i>	0,96	<i>Stellaria media</i>	3,89
25.	<i>Torilis japonica</i>	1,18	<i>Chaerophyllum temulum</i>	4,67
26.	<i>Verbascum austriacum</i>	0,69	<i>Odontites rubra</i>	2
27.	<i>Populus alba</i>	0,89	<i>Salix fragilis</i>	1,45
28.	<i>Holcus lanatus</i>	3,37	<i>Elytrigia canina</i>	16,74
29.	<i>Inula salicina</i>	3,44	<i>Carlina vulgaris</i>	8,82
30.	<i>Potentilla reptans</i>	1,27	<i>Geum urbanum</i>	2,81
31.	<i>Medicago lupulina</i>	1,31	<i>Melilotus albus</i>	2,37

Závěr experimentální části

Dosavadní pilotní výsledky v této bakalářské práci podporují hypotézu, že na plochách uvnitř rudního odkaliště, které nepokročily v sukcesi do lesního stadia, se vyskytují rostliny s menším genomem než v okolí odkaliště. Nicméně tyto výsledky lze požadovat za dílčí a je žádoucí je v budoucnu dokončit a další sběry a analýzy ve všech skutečně se zde vyskytujících konspicivních (kongenerických) dvojicích, resp. n-ticích rostlinných taxonů. Bylo by to vhodné i z hlediska kvantity dat pro statistické zpracování. Tato práce tedy připravila možnou půdu pro možný výzkum, ve kterém by se mohly použít výsledky například z více odkališť (rudních či strusko-popílkových) nebo dalších postindustriálních lokalit či pro větší celkový soubor testovaných rostlin.

Reference

1. ADAMS, K. L. et J. F. WENDEL, 2005. Polyploidy and genome evolution in plants. *Current opinion in plant biology*. **8**(2), 135–141.
2. ANDERSON, E. et G. L. STEBBINS, 1950. Variation and evolution in plants. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*. **78**, 170–171.
3. ARUMUGANATHAN, K. et E. D. EARLE, 1991. Estimation of nuclear DNA content of plants by flow cytometry. *Plant molecular biology reporter*. **9**(3), 229–241.
4. AVERY JR, G. S. et L. POTTORF, 1945. Polyploidy, auxin and nitrogen in green plant tissue. *American Journal of Botany*. **32**(10), 669–671.
5. BAKER, A. J. M. et J. PROCTOR, 1990. The influence of cadmium, copper, lead, and zinc on the distribution and evolution of metallophytes in the British Isles. *Plant Systematics and Evolution*. **173**(1–2), 91–108.
6. BAKER, A. J. M., 1981. Accumulators and excluders-strategies in the response of plants to heavy metals. *Journal of plant nutrition*. **3**(1–4), 643–654.
7. BAKER, H. G., 1965. Characteristics and modes of origin of weeds. In: BAKER H. G. et G. L. STEBBINS (eds.). *The genetics of colonizing species: Proceedings of the 1st International Union of Biological Sciences*. Asilomar, California. 1965 p.147-172
8. BENNETT, M. D. et J. B. SMITH, 1976. Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*. **274**(933), 227–274.
9. BENNETT, M. D., 1972. Nuclear DNA content and minimum generation time in herbaceous plants. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*. **181**(1063), 109–135.
10. BENNETT, M. D. 1976. DNA amount, latitude, and crop plant distribution. *Environmental and Experimental Botany*. **16**(2-3), 93-108.
11. BENNETT, M. D., 1977. The time and duration of meiosis. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*. **277**(955), 201–226.
12. BENNETT, M. D. et J. B. SMITH, 1972. The effects of polyploidy on meiotic duration and pollen development in cereal anthers. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*. **181**(1062), 81–107.
13. BENNETT, M. D., P. BHANDOL et I. J. LEITCH, 2000. Nuclear DNA amounts in angiosperms and their modern uses—807 new estimates. *Annals of botany*. **86**(4), 859–909.
14. BRYNDOVÁ, I. et P. KOVÁŘ 2004. Dynamics of the demographic parameters of the clonal plant *Calamagrostis epigejos* (L.) Roth in two kinds of industrial deposits (Abandoned sedimentation basins in Bukovina and Chvaletice). In: KOVÁŘ P. (ed.). *Natural Recovery of Human-Made Deposits in Landscape (Biotic Interactions and Ore/Ash-Slag Artificial Ecosystems)*. Academia, Prague, p. 267-276.
15. BERNSTRÖM, P., 1950. Cleisto- and chasmogamic seed setting in di- and tetraploid *Lamium amplexicaule*. *Hereditas*. **36**, 492–506.
16. CAVALIER-SMITH, T., 1978. Nuclear volume control by nucleoskeletal DNA, selection for cell volume and cell growth rate, and the solution of the DNA C-value paradox. *Journal of cell science*. **34**(1), 247–278.
17. COYNE, J. A. et H. A. ORR, Sympatric Speciation. In. *Speciation*. Sinauer Associates. Sunderland, MA. 2004. p. 127–281.
18. CREBER, H. M. C., M. S. DAVIES, D. FRANCIS et H. D. WALKER, 1994. Variation in DNA C value in natural populations of *Dactylis glomerata* L. *New Phytologist*. **128**(3), 555–561.

19. DERELLE, E., C. FERRAZ, S. ROMBAUTS, P. ROUZÉ, A. Z. WORDEN, S. ROBBENS, F. PARTENSKY, S. DEGROEVE, S. ECHEYNIÉ et R. COOKE, 2006. Genome analysis of the smallest free-living eukaryote *Ostreococcus tauri* unveils many unique features. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **103**(31), 11647–11652.
20. DOLEZEL, J., J. GREILHUBER et. J. SUDA, 2007. *Flow cytometry with plant cells. analysis of genes, chromosomes and genomes*. John Wiley & Sons.
21. DOSTÁL, P. et P. KOVÁŘ, 2013. Seed rain and seed persistence of *Calamagrostis epigejos* (L) ROTH in extreme ecotoxicological conditions at an abandoned ore-washery sedimentation basin. *Journal of Landscape Ecology*. **6**(2), 17-33.
22. DRURY, W. H. et I. C. T. NISBET, 1973. Succession. *Journal of the Arnold arboretum*. **54**(3), 331–368.
23. DUSHENKOV, S, D. VASUDEV, Y. KAPULNIK, D. GLEBA, D. FLEISHER, K. Ch. TING et B. ENSLEY, 1997. Removal of uranium from water using terrestrial plants. *Environmental Science & Technology*. **31**(12), 3468–3474.
24. FELSENSTEIN, J., 1985. Phylogenies and the comparative method. *The American Naturalist*. **125**(1): 1-15.
25. FRANKLIN, J. F., J. A. MACMAHON, F. J. SWANSON et J. R. SEDELL, 1985. Ecosystem responses to the eruption of Mount St. Helens. *National Geographic Research*. **1**, 198–216.
26. GARBUTT, K. et F. A. BAZZAZ, 1983. Leaf demography, flower production and biomass of diploid and tetraploid populations of *Phlox drummondii* Hook. on a soil moisture gradient. *New Phytologist*. **93**(1), 129–141.
27. GAUT, B. S., 2001. Patterns of chromosomal duplication in maize and their implications for comparative maps of the grasses. *Genome research*. **11**(1), 55–66.
28. GREGORY, T. R., 2001. Coincidence, coevolution, or causation? DNA content, cell size, and the C-value enigma. *Biological reviews*. **76**(1), 65–101.
29. GREILHUBER, J., J. DOLEŽEL, M. A. LYSAK et M. D. BENNETT, 2005. The origin, evolution and proposed stabilization of the terms ‘genome size’ and ‘C-value’ to describe nuclear DNA contents. *Annals of botany*. **95**(1), 255–260.
30. GRIME, J. P., 1979. *Plant strategies and vegetation processes*. John Wiley & Sons.
31. GRIME, J. P. et M. A. MOWFORTH, 1982. Variation in genome size - an ecological interpretation. *Nature*. **299**(5879), 151.
32. GUSTAFSON, J. P., A. J. LUKASZEWSKI et M. D. BENNETT, 1983. Somatic deletion and redistribution of telomeric heterochromatin in the genus *Secale* and in Triticale. *Chromosoma*. **88**(4), 293–298.
33. HOBBS, R. J. et D. A. NORTON, 1996. Towards a conceptual framework for restoration ecology. *Restoration ecology*. **4**(2), 93–110.
34. CHASE, J. M. et M. A. LEIBOLD, 2003. *Ecological niches. linking classical and contemporary approaches*. University of Chicago Press.
35. CHEN, Sh-L. et P. S. TANG, 1945. Studies on colchicine-induced autotetraploid barley. III. Physiological studies. *American Journal of Botany*. 177–179.
36. JAROLÍMOVÁ, V. 2004. Influence of toxic substrates of the abandoned sedimentation basins on chromosome apparatus of vascular plants. In: KOVÁŘ, P. (ed.). *Natural Recovery of Human-Made Deposits in Landscape (Biotic Interactions and Ore/Ash-Slag Artificial Ecosystems)*. Academia, Prague, p. 77-82.
37. JIRÁČKOVÁ, M. et P. DOSTÁL 2004. Microsite versus dispersal limitation in primary succession: a case study from an abandoned ore-washery sedimentation basin. In: KOVÁŘ P. (ed.). *Natural Recovery of Human-Made Deposits in Landscape (Biotic Interactions and Ore/Ash-Slag Artificial Ecosystems)*. Academia, Prague, p. 59-76.

38. KNIGHT, Ch. A. et D. D. ACKERLY, 2002. Variation in nuclear DNA content across environmental gradients: a quantile regression analysis. *Ecology Letters*. **5**(1), 66–76.
39. KOVÁŘ, P., 1979. Geobotanické aspekty rekultivace odkališť manganorudných a kyzových závodů Chvaletice. *Práce a Studie-Přír.*, **11**, 63-78
40. KOVÁŘ, P., 2004. Industrial deposits of abandoned sedimentation basins—technology of the origin and vegetation. In: KOVÁŘ, P. (ed.). *Natural Recovery of Human-Made Deposits in Landscape (Biotic Interactions and Ore/Ash-Slag Artificial Ecosystems)*. Academia, Prague, p. 15-29
41. KOVÁŘ, P. 2014 *Ekosystémová a krajinná ekologie*. Nakladatelství Karolinum (Vyd. 3), Praha.
42. KOVÁŘ, P. 2019. Ostrovy divočiny-odkaliště po 40 letech. In: SMUTEK D. (ed.). *Chvaletice. Příběh o železe, síře a manganu*. Granit, s.r.o., p. 58-64.
43. KOVÁŘ, P. et T. HERBEN, 2004. Small-scale spatiotemporal dynamics of plant cover during the initial phase of primary succession in an abandoned ore-washery sedimentation basin. In: KOVÁŘ, P. (ed.). *Natural Recovery of Human-Made Deposits in Landscape (Biotic Interactions and Ore/Ash-Slag Artificial Ecosystems)* Academia, Prague, p. 277-284.
44. KOVÁŘ, P., J. ŠTĚPÁNEK et J. KIRSCHNER, 2004. Clonal diversity of *Calamagrostis epigejos* (L.) Roth in relation to type of industrial substrate and successional stage. In: KOVÁŘ, P. (ed.). *Natural Recovery of Human-Made Deposits in Landscape (Biotic Interactions and Ore/Ash-Slag Artificial Ecosystems)*. Academia, Prague, p. 285-293.
45. KOVÁŘ, P., O. RAUCH et A. KUBÁTOVÁ, 2009. Ekologie obnovy narušených míst III. Cizorodé substráty v krajině. *Živa*. **57**(3), 116–119.
46. KOVÁŘ P., O. RAUCH et V. DLOUHÁ, 2012. Experimentální urychlení primární sukcese na opuštěných odkalištích - podpůrná role povrchové biologické krusty. In: JONGEPIEROVÁ, I., P. PEŠOUT, J. W. JONGEPIER et K. PRACH (eds.): *Ekologická obnova v České republice. Agentura ochrany přírody a krajiny České republiky*. Praha, p. 106-108.
47. KUBÁT, K. (ed.). 2002. *Klíč ke kvetene České republiky*. Academia.
48. KUBESOVÁ, M, L. MORAVCOVÁ, J. SUDA, V. JAROSIK et P. PYSEK, 2010. Naturalized plants have smaller genomes than their non-invading relatives: a flow cytometric analysis of the Czech alien flora. *Preslia*. **82**(1), 81–96.
49. KUČOVÁ, V., J. DOSTÁLEK, M. EHRLICH, K. KUČA et B. PACÁKOVÁ-HOŠŤÁLKOVÁ, 2014. *Metodika tvorby standardizovaného záznamu krajinné památkové zóny*. Národní památkový ústav, Praha
50. LEVIN, D. A., 1983. Polyploidy and novelty in flowering plants. *The American Naturalist*. **122**(1), 1–25.
51. LEVIN, D. A., 2000. *The origin, expansion, and demise of plant species*. Oxford University Press on Demand., New York.
52. LEVIN, D. A., 2002. *The role of chromosomal change in plant evolution*. Oxford University Press., New York.
53. LI, W-L., G. P. BERLYN et P. M. S. ASHTON, 1996. Polyploids and their structural and physiological characteristics relative to water deficit in *Betula papyrifera* (Betulaceae). *American Journal of Botany*. **83**(1), 15–20.
54. MEEUS, J. H. A., 1995. Pan-European landscapes. *Landscape and Urban planning*. **31**(1–3), 57–79.
55. MRÁZEK, J., 2004. Comparison of the growth of dominant trees (*Betula pendula*, *Populus tremula*) in primary succession on toxic substrate. In: KOVÁŘ, P. (ed.).

- Natural Recovery of Human-Made Deposits in Landscape (Biotic Interactions and Ore/Ash-Slag Artificial Ecosystems)*. Academia, Prague, p. 294–299.
56. MÜNTZING, A., 1936. The evolutionary significance of autopolyploidy. *Hereditas*. **21**(2–3), 363–378.
 57. PELLICER, J., M. F. FAY et I. J. LEITCH, 2010. The largest eukaryotic genome of them all? *Botanical Journal of the Linnean Society*. **164**(1), 10–15.
 58. PETERSON, P. J., 1975. Element accumulation by plants and their tolerance of toxic mineral soils. In: *Proceedings of the international conference on heavy metals in the environment*. University of Toronto, Canada. p. 39–54.
 59. PETROVÁ, Š., P. SOUDEK et T. VANĚK, 2013. Remediací oblastí těžby uranu v České republice. *Chem. Listy*. **107**, 283–291.
 60. PLENDERLEITH, R. W. et L. C. BELL, 1990. Tolerance of twelve tropical grasses to high soil concentrations of copper. *Tropical Grasslands*. **24**, 103–110.
 61. PRACH, K., 1987. Succession of vegetation on dumps from strip coal mining, NW Bohemia, Czechoslovakia. *Folia Geobotanica et Phytotaxonomica*. **22**(4), 339–354.
 62. PRACH, K. et R. J. HOBBS, 2008. Spontaneous succession versus technical reclamation in the restoration of disturbed sites. *Restoration Ecology*. **16**(3), 363–366.
 63. PRACH, K., J. FROUZ, P. KAREŠOVÁ, P. KONVALINKOVÁ, V. KOUTECKÁ, O. MUDRÁK, J. NOVÁK, J. ŘEHOUNEK, K. ŘEHOUNKOVÁ et L. TICHÝ, 2009. Ekologie obnovy narušených míst II. Místa narušená těžbou surovin. *Živa*. **57**(2), 68–72.
 64. PRACH, K., L. TICHÝ, K. LENCOVÁ, M. ADÁMEK, T. KOUTECKÝ, J. SÁDLO, A. BARTOŠOVÁ, J. NOVÁK, P. KOVÁŘ, P. ŠMILAUER et K. ŘEHOUNKOVÁ, 2016. Does succession run towards potential natural vegetation? An analysis across seres. *Journal of Vegetation Science*. **27**, 515–523.
 65. RAYBURN, A. L., H. J. PRICE, J. D. SMITH, et R. GOLD, 1985. C-band heterochromatin and DNA content in *Zea mays*. *American Journal of Botany*. **72**(10), 1610–1617.
 66. RICHARDSON, D. M., P. PYŠEK, M. REJMÁNEK, M. G. BARBOUR, F. D. PANETTA et C. J. WEST, 2000. Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. *Diversity and distributions*. **6**(2), 93–107.
 67. ŘEHOUNEK, J., K. ŘEHOUNKOVÁ et K. PRACH, 2010. *Ekologická obnova území narušených těžbou nerostných surovin a průmyslovými deponiemi*. Calla, České Budějovice.
 68. SANO, Y., 1980. Adaptive strategies compared between the diploid and tetraploid forms of *Oryza punctata*. *The botanical magazine = Shokubutsu-gaku-zasshi*. **93**(3), 171–180.
 69. SCHLAEPFER, D. R., P. J. EDWARDS et R. BILLETER, 2010. Why only tetraploid *Solidago gigantea* (Asteraceae) became invasive: a common garden comparison of ploidy levels. *Oecologia*. **163**(3), 661–673.
 70. SOLTIS, D. E. et P. S. SOLTIS, 1995. The dynamic nature of polyploid genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **92**(18), 8089–8091.
 71. SOLTIS, D. E., R. J. A. BUGGS, J. J. DOYLE et P. S. SOLTIS, 2010. What we still don't know about polyploidy. *Taxon*. **59**(5), 1387–1403.
 72. SOLTIS, D. E., P. S. SOLTIS, M. D. BENNETT et I. J. LEITCH, 2003. Evolution of genome size in the angiosperms. *American Journal of Botany*. **90**(11), 1596–1603.
 73. SOLTIS, P. S. et D. E. SOLTIS, 2012. *Polyploidy and genome evolution*., Springer, Berlin.
 74. SUDA, J., 2005. Co se skrývá za rostlinnou průtokovou cytometrií. *Živa*. **53**(1), 46–48.

75. ŠOURKOVÁ, M., J. FROUZ et H. ŠANTRŮČKOVÁ, 2005. Accumulation of carbon, nitrogen and phosphorus during soil formation on alder spoil heaps after brown-coal mining, near Sokolov (Czech Republic). *Geoderma*. **124**(1–2), 203–214.
76. ŠTEFÁNEK, M., 2015. Role of plant dominants on abandoned tailings containment from manganese-ore mining in Chvaletice, Eastern Bohemia, Czech Republic (Overview of long-term case studies). *Journal of Landscape Ecology*. **8**(3), 92–97.
77. TE BEEST, M., J. J. LE ROUX, D. M. RICHARDSON, A. K. BRYSTING, J. SUDA, M. KUBEŠOVÁ et P. PYŠEK, 2011. The more the better? The role of polyploidy in facilitating plant invasions. *Annals of botany*. **109**(1), 19–45.
78. THOMAS Jr., Ch. A., 1971. The genetic organization of chromosomes. *Annual review of genetics*. **5**(1), 237–256.
79. URBANOVÁ, J., P. KOVÁŘ et P. DOSTÁL, 2017. What processes shape early-successional vegetation in fly ash and mine tailings? *Plant Ecology*. **218**(2): 127–137.
80. VAN STRAALLEN, N. M. et D. ROELOFS, 2011. *An introduction to ecological genomics*. OUP, Oxford.
81. VAN'T HOF, J. et A. H. SPARROW, 1963. A relationship between DNA content, nuclear volume, and minimum mitotic cycle time. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **49**(6), 897.
82. VIDIC, T., J. GREILHUBER, B. VILHAR et M. DERMASTIA, 2009. Selective significance of genome size in a plant community with heavy metal pollution. *Ecological Applications*. **19**(6), 1515–1521.
83. VISION, T. J., D. G. BROWN et S. D. TANKSLEY, 2000. The origins of genomic duplications in Arabidopsis. *Science*. **290**(5499), 2114–2117.
84. WALKER, C. H., R. M. SIBLY et D. B. PEAKALL, 2016. *Principles of ecotoxicology*: CRC Press, Boca Raton.
85. WALKER, L. R. et R. DEL MORAL, 2003. *Primary succession and ecosystem rehabilitation*. Cambridge University Press, Cambridge.
86. WATSON, J. D. et F. CRICK, 1953. A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* **171**(3), 737–738.
87. WILSON, E. O. et R. H. MACARTHUR, 1967. *The theory of island biogeography*. Princeton University Press, Princeton.
88. WOLFE, K. H., 2001. Yesterday's polyploids and the mystery of diploidization. *Nature Reviews Genetics*. **2**(5), 333.
89. ZÁKRAVSKÝ, P., Z. HROUDOVÁ et O. RAUCH, 2004. Response of *Phragmites australis* to heavy metal loaded habitats. In: KOVÁŘ, P. (ed.). *Natural Recovery of Human-Made Deposits in Landscape (Biotic Interactions and Ore/Ash-Slag Artificial Ecosystems)*. Academia, Prague, p. 83–97.

Internetové zdroje

1. Pladias. *Databáze české flóry a vegetace*. [online] 2014–2020. www.pladias.cz [cit. 08.01.2020]. *Festuca ovina*, <<https://pladias.cz/taxon/data/Festuca%20ovina#12>>
2. Pladias. *Databáze české flóry a vegetace*. [online] 2014–2020. www.pladias.cz, [cit. 08.01.2020]. *Festuca rubra*, <<https://pladias.cz/taxon/data/Festuca%20rubra#12>>
3. Pladias. *Databáze české flóry a vegetace*. [online] 2014–2020. www.pladias.cz, [cit. 08.01.2020]. *Festuca gigantea*, <<https://pladias.cz/taxon/data/Festuca%20gigantea#12>>
4. Pladias. *Databáze české flóry a vegetace*. [online] 2014–2020. www.pladias.cz, [cit. 08.01.2020]. *Vicia cracca*, <<https://pladias.cz/taxon/data/Vicia%20cracca#12>>
5. Pladias. *Databáze české flóry a vegetace*. [online] 2014–2020. www.pladias.cz, [cit. 08.01.2020]. *Vicia angustifolia*, <<https://pladias.cz/taxon/data/Vicia%20angustifolia#12>>